

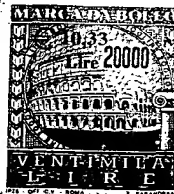


**MINISTERO DELL'INDUSTRIA, DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO**

DIREZIONE GENERALE DELLA PRODUZIONE INDUSTRIALE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

09/926327



REC'D 05 JUL 2000

WIPO

PCT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per INV. IND.

N. MI99 A 000751

*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali  
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati  
risultano dall'accluso processo verbale di deposito*

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Roma, li 22 MAR 1999

IL DIRETTORE DELLA DIVISIONE

Giuseppe Pizzoni

HF 2042/061

## AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

MODULO

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE. ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

## A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione **NICOX S.A.**  
 Residenza **PARIGI (FR)** codice \_\_\_\_\_  
 2) Denominazione \_\_\_\_\_  
 Residenza \_\_\_\_\_ codice \_\_\_\_\_

## B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome **RIVA ALESSANDRO** cod. fiscale **0000010441370151**  
 denominazione studio di appartenenza **SAMA PATENTS**  
 via **G.B. MORGAGNI** n. **2** città **MILANO** cap **20129** (prov) **MI**

## C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via \_\_\_\_\_ n. \_\_\_\_\_ città \_\_\_\_\_ cap \_\_\_\_\_ (prov) \_\_\_\_\_

## D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/scl) \_\_\_\_\_

gruppo/sottogruppo \_\_\_\_\_

**"COMPOSTI FARMACEUTICI"**ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA \_\_\_\_\_

N° PROTOCOLLO \_\_\_\_\_

## INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) **DEL SOLDATO PIERO** 3) \_\_\_\_\_  
 2) \_\_\_\_\_ 4) \_\_\_\_\_

## F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato  
S/R

## SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo

1) \_\_\_\_\_  
 2) \_\_\_\_\_

## G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICRORGANISMI, denominazione

## H. ANNOTAZIONI SPECIALI



## DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) **2** **PROV** n. pag. **89** riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) ...  
 Doc. 2) **1** **PROV** n. tav. \_\_\_\_\_ disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare) ...  
 Doc. 3) **1** **RIS** lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale ...  
 Doc. 4) **1** **RIS** designazione inventore ...  
 Doc. 5) **1** **RIS** documenti di priorità con traduzione in italiano ...  
 Doc. 6) **1** **RIS** autorizzazione o atto di cessione ...  
 Doc. 7) **1** nominativo completo del richiedente

SCIOGLIMENTO RISERVE  
 Data \_\_\_\_\_ N° Protocollo \_\_\_\_\_  
 confronta singole priorità

8) attestati di versamento, totale lire

**NOVECENTOQUINDICIMILA=**

obbligatorio

COMPILATO IL **13 04 1999** FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I) **p. NICOX S.A.**  
 CONTINUA SINO **N.O.** **SAMA PATENTS (RIVA ALESSANDRO)**

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SINO **81**UFFICIO PROVINCIALE IND. COMM. ART. DI **MILANO** codice **15**VERBALE DI DEPOSITO NUMERO DI DOMANDA **MI99A 000751** Reg. AL'anno millenovecento **NOVANTANOVE**, il giorno **TREDICI**, del mese di **APRILE**il (i) richiedente (i) sopraindicato (i) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. **100** fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraportato.

## I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE

*[Signature]*  
 IL DEPOSITANTE

timbro  
 dell'ufficio

*[Signature]*  
 L'UFFICIALE ROGANTE  
**CORTONESI MAURIZIO**

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA

M199A00051

REG. A

DATA DI DEPOSITO

3/04/1999 HF 2042/061

NUMERO BREVETTO

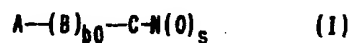
DATA DI RILASCIO

D. TITOLO

"COMPOSTI FARMACEUTICI"

L. RIASSUNTO

COMPOSTI STEROIDEI O LORO SALI AVENTI LE SEGUENTI FORMULE GENERALI (I) E (II):



IN CUI:

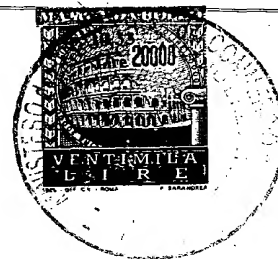
s È UN INTERO UGUALE AD 1 O 2, PREFERIBILMENTE s = 2;

b<sub>0</sub> = 0 OPPURE 1;

A = R-, IN CUI R È IL RADICALE DEL FARMACO STEROIDEO,

C E C<sub>1</sub> SONO DUE RADICALI BIVALENTI.I PRECURSORI DEI RADICALI B E DI B<sub>1</sub> SONO TALI DA SODDISFARE I TEST FARMACOLOGICI RIPORTATI NELLA DESCRIZIONE.

M. DISEGNO



Descrizione dell'invenzione industriale a nome:

13 APR. 1999

NICOX S.A., di nazionalità francese, con sede in 45 Avenue Kléber, 75116 Parigi - Francia.

MI99 A 000751

\* \* \* \* \*

La presente invenzione riguarda nuovi composti steroidei ad uso sistemico e non, e relative composizioni, da utilizzarsi nelle condizioni di stress ossidativo e/o disfunzioni endoteliali. In particolare si riferisce a composti a struttura steroidea aventi attività antiinfiammatoria ed immunodepressiva ed angiostatica (i cosiddetti antiinfiammatori steroidei), o gastrointestinale.

I composti secondo la presente invenzione risultano terapeuticamente utili nel trattamento di condizioni morbose in cui si applicano i prodotti steroidei in generale con aumentato beneficio, in termini di migliore tollerabilità e/o efficacia.

Per stress ossidativo si intende la generazione di radicali liberi o sostanze radicaliche, le quali causano la distruzione della cellula e del tessuto circostante (Pathophysiology: the biological basis for disease in adults and children, McCance & Huether 1998 pagg. 48-54).

Per disfunzioni endoteliali si intendono quelle a carico dell'endotelio vasale. Il danno all'endotelio vasale è riconosciuto come uno degli eventi maggiori in grado di scatenare una serie di processi patologici a carico di organi ed appa-

ti diversi, come di seguito descritto (L. Monophysiology: The biological basis for disease in adults and children, McCance & Huether 1998 pag. 1025).

Come noto, lo stress ossidativo e/o le disfunzioni endoteliali sono associati a svariate patologie come riportato qui di seguito. Lo stress ossidativo é anche provocato dalla tossicità di un gran numero di farmaci che influenza in modo significativo il rendimento (performance) di molte categorie di farmaci.

Le situazioni patologiche sono di natura cronica, debilitante e sono tipiche dei soggetti anziani. Come già detto in queste condizioni patologiche i farmaci utilizzati per le specifiche indicazioni terapeutiche per cui sono prescritti e commercializzati, presentano una performance, come sopra definita, notevolmente peggiorata.

Esempi di situazioni patologiche causate dallo stress ossidativo e/o dalle disfunzioni endoteliali, oppure presenti negli anziani sono le seguenti:

- 
- Per il sistema cardiovascolare: ischemia miocardica e vascolare in genere, ipertensione, stroke, arteriosclerosi, ecc.
  - Per il tessuto connettivo: artrite reumatoide e malattie infiammatorie collegate, ecc.
  - Per il sistema polmonare: asma e malattie infiammatorie collegate, ecc.

- Per il sistema gastrointestinale: dispepsia ulcerativa e non, malattie infiammatorie intestinali, ecc.
- Per il sistema nervoso centrale: morbo di Alzheimer, ecc.
- Per il sistema urogenitale: impotenza, incontinenza.
- Per il sistema cutaneo: eczema, neurodermatite, acne.
- Le malattie infettive in genere (rif.: Schwarz-KB, Brady "Oxidative stress during viral infection: A review" Free radical Biol. Med. 21/5, 641-649 1996).

Va inoltre menzionato il processo di invecchiamento dell'organismo, che può ritenersi una vera e propria condizione patologica (ref. Pathophysiology: the biological basis for disease in adults and children, pagg. 71-77).

I farmaci noti utilizzati per le specifiche indicazioni terapeutiche per cui sono prescritti e commercializzati, quando sono somministrati a pazienti con patologie associate a stress ossidativo e/o a disfunzioni endoteliali mostrano minore attività e/o maggiore tossicità.

Questo si verifica per esempio per gli steroidi.

---

La ricerca farmaceutica é indirizzata alla individuazione di nuovi steroidi che abbiano aumentato indice terapeutico (rapporto efficacia/tossicità) o diminuito rapporto rischio/beneficio anche in condizioni patologiche come quelle sopra indicate, nelle quali l'indice terapeutico di un gran numero di steroidi risulta diminuito. Infatti nelle condizioni di stress ossidativo e/o di disfunzioni endoteliali sopra in-

dicare gli steroidi mostrano attività inferiore e/o tossicità superiore.

E' ben noto che gli steroidi rappresentano un intervento farmacologico di prima scelta nella terapia di malattie infiammatorie. Questa categoria di farmaci, fra cui si possono citare ad esempio l'idrocortisone, il cortisone, il prednisone, il prednisolone, il fludrocortisone, il desossicorticosterone, il metilprednisolone, il triamcinolone, il parametasone, il betametasone, il dexametasone, il triamcinolone acetone, il fluocinolone acetone, il beclometasone, l'acetossipregnelone, ecc., esercita effetti farmaco-tossicologici marcati su organi diversi e per questo motivo l'uso clinico e la sua interruzione provocano una serie di effetti collaterali, alcuni dei quali assai gravi. Si veda ad esempio Goodman & Gilman, "The pharmaceutical Basis of Therapeutics" 9<sup>th</sup> ed., pagg. 1459-1465, 1996.

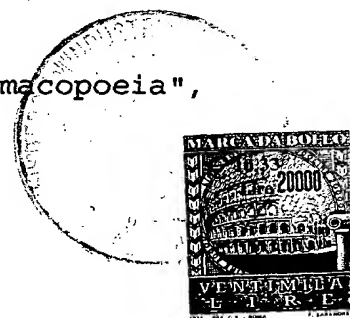
Fra questi effetti tossici si possono menzionare:

quelli a carico del tessuto osseo che portano ad un metabolismo cellulare alterato ed elevata incidenza di osteoporosi;

quelli a carico del sistema cardiovascolare che generano risposte ipertensive;

quelli a carico dell'apparato gastrointestinale che danno danni gastrici.

Si veda ad esempio Martindale "The extrapharmacopoeia",



30<sup>th</sup> ed., pagg. 12-723, 1993.

Appartengono ai farmaci steroidei anche gli acidi biliari, che sono usati nella terapia dei disordini epatici e nelle coliche biliari. Fra gli acidi biliari si possono menzionare l'acido chenodesossicolico e ursodesossicolico, ecc..

L'acido ursodesossicolico viene usato anche in alcune disfunzioni epatiche (cirrosi epatiche di origine biliare, ecc.). La loro tollerabilità é fortemente peggiorata in presenza di complicazioni gastrointestinali (danno epatico cronico, ulcera peptica, infiammazione intestinale, ecc.). Anche nel caso degli acidi biliari lo stress ossidativo influenza marcatamente il rendimento dei prodotti: sia l'efficacia che la tollerabilità degli acidi chenodesossicolico e ursodesossicolico sono significativamente ridotte. In particolare gli effetti indesiderati a carico del fegato risultano esaltati. Fra le strutture steroidee si possono menzionare anche gli estrogeni per il trattamento delle dislipidemie, dei disordini ormonali, dei tumori dell'apparato genitale femminile. Anche questi prodotti mostrano effetti collaterali come indicato sopra, in particolare a livello epatico.

Secondo l'arte nota sopra citata sembra che sia pressoché impossibile separare le azioni terapeutiche dagli effetti collaterali, si veda Goodman et al., citato sopra, a pag. 1474.

I composti steroidei sono completamente diversi dai composti antiinfiammatori non steroidei dal punto di vista chimi-



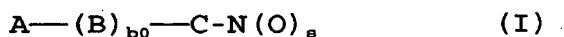
co, farmacologico e biochimico in quanto il meccanismo di azione farmaco-tossicologica dei prodotti antiinfiammatori non steroidei è basato sull'inibizione di una o più delle cicloossigenasi (COX), mentre quelli steroidei non hanno niente a che fare con le COX ed hanno meccanismi di azione farmaco-tossicologica più complessi non ancora spiegati per intero.

Infatti è ben noto che questi due gruppi di composti sono classificati in categorie completamente distinte nelle farmacopee internazionali.

Era sentita l'esigenza di avere a disposizione steroidi che mostrassero una performance terapeutica migliorata, intesa come minore tossicità e/o maggiore efficacia, tali da poter essere utilizzati in pazienti in condizioni di stress ossidativo e/o di disfunzioni endoteliali, senza presentare gli svantaggi dei farmaci noti nell'arte.

E' stato ora sorprendentemente ed inaspettatamente trovato che i problemi tecnici evidenziati nella somministrazione di farmaci steroidei a pazienti in condizioni di stress ossidativo e/o di disfunzioni endoteliali, o a pazienti anziani in generale, vengono risolti mediante una nuova classe di farmaci steroidei come qui di seguito descritta.

Costituiscono un oggetto dell'invenzione composti steroidi o loro sali aventi le seguenti formule generali (I) e (II):



in cui:

$s = \epsilon$  un intero uguale ad 1 o 2, preferibilmente  $s = 2$ ;

$b_0 = 0$  oppure 1;

$A = R-$ , in cui  $R$  è il radicale del farmaco steroideo come sotto definito,

$B = -T_B-X_2-T_{BI}-$  in cui

$T_B$  e  $T_{BI}$  sono uguali o diversi;

$T_B = (CO)$  quando la funzione reattiva nello steroide precursore è  $-OH$ ;  $T_B = X$  quando la funzione reattiva nello steroide precursore è  $-COOH$ ;

$X = O, S, NR_{1C}, R_{1C}$  è  $H$  oppure un alchile lineare o ramificato, avente da 1 a 5 atomi di carbonio, oppure una valenza libera;

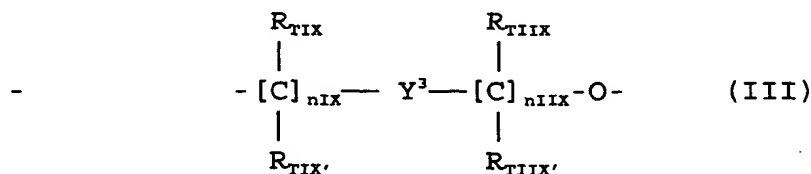
$T_{BI} = (CO)_{tx}$  oppure  $(X)_{txx}$ , in cui  $tx$  e  $txx$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $tx = 1$  quando  $txx = 0$ ,  $tx = 0$  quando  $txx = 1$ ;  $X$  è come sopra definito;

$X_2$  è un pontante bivalente come sotto definito;

$C$  è il radicale bivalente  $-T_c-Y-$  in cui

$T_c = (CO)$  quando  $tx = 0$ ,  $T_c = X$  quando  $txx = 0$ , essendo  $X$  come sopra definito;

$Y$  è:



in cui:

$n_{IX}$  é intero compreso tra 3, preferibilmente 1;

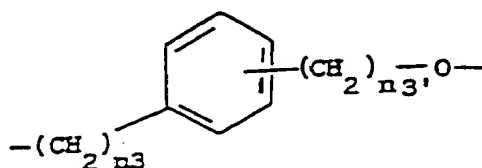
$n_{IIX}$  é un intero compreso tra 1 e 3, preferibilmente 1;

$R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$ , uguali o diversi tra loro sono H oppure alchile lineare o ramificato  $C_1-C_4$ ; preferibilmente  $R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$  sono H.

$Y^3$  é un anello eterociclico contenente uno o due atomi di azoto, saturo, insaturo o aromatico, a 5 o 6 atomi,

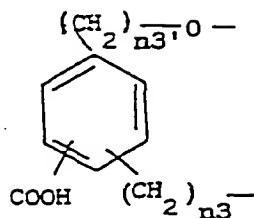
oppure  $Y$  é  $Y_0$ , scelto tra i seguenti:

- un gruppo alchilenossi  $R'O$  in cui  $R'$  é  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificato quando possibile, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un cicloalchilene avente da 5 a 7 atomi di carbonio, nell'anello cicloalchilenico uno o più atomi di carbonio possono essere sostituiti da eteroatomi, l'anello può avere catene laterali di tipo  $R'$ , essendo  $R'$  come sopra definito; oppure

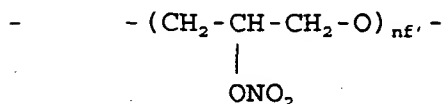
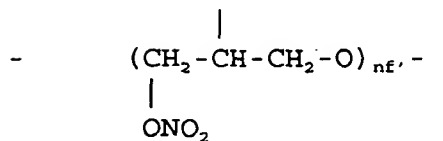


in cui  $n_3$  é un intero da 0 a 3 ed  $n_3'$  é un intero da 1 a 3;

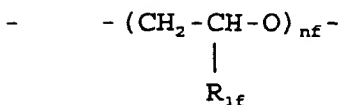
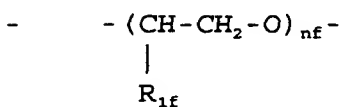




in cui  $n3$  ed  $n3'$  hanno il significato sopra indicato

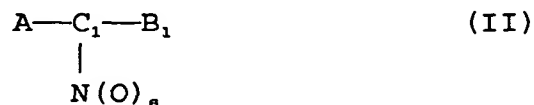


in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 4;

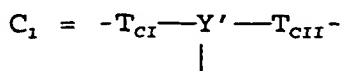


in cui  $\text{R}_{1f} = \text{H}, \text{CH}_3$  e  $nf$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4;

preferibilmente  $\text{Y} = \text{Y}_0 = -\text{R}'\text{O}-$  in cui  $\text{R}'$  è come sopra definito, preferibilmente  $\text{R}'$  è un alchile  $\text{C}_1-\text{C}_6$



in cui:



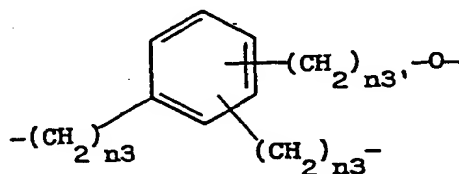
in cui  $T_{CI}$  e  $T_{CII}$  sono uguali o diversi,

$T_{CI} = (CO)$  quando la funzione reattiva dello steroide precursore é  $-OH$ ,  $T_{CI} = X$  quando la funzione reattiva dello steroide precursore é  $-COOH$ , essendo  $X$  come sopra definito;

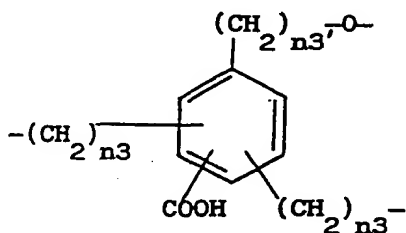
$T_{CII} = (CO)_{tI}$  oppure  $(X)_{tII}$ , in cui  $tI$  e  $tII$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $tI = 1$  quando  $tII = 0$ ,  $tI = 0$  quando  $tII = 1$ ;  $X$  é come sopra definito;

$Y'$  é come  $Y$  sopra definito, ma con tre valenze libere invece di due, preferibilmente é scelto tra i seguenti:

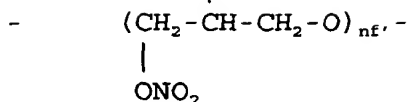
- un gruppo  $-R'O-$  in cui  $R'$  é  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificato, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un anello saturo avente da 5 a 7 atomi di carbonio, opzionalmente sostituito; oppure



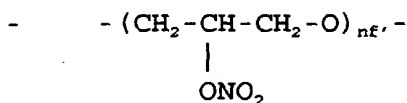
in cui  $n3$  é un intero da 0 a 3 ed  $n3'$  é un intero da 1 a 3;



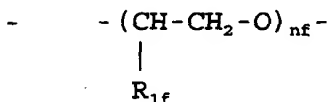
in cui  $n3$  ed  $n3'$  hanno il significato sopra indicato



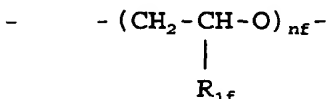
in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera



in cui  $\text{nf}'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 4; in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera



in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera

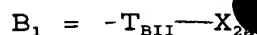


in cui  $\text{R}_{1f} = \text{H}, \text{CH}_3$  e  $\text{nf}$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4; in cui un atomo di idrogeno su

~~uno degli atomi di carbonio é sostituito da una va-~~

lenza libera;

preferibilmente  $\text{Y}' = -\text{R}'\text{O}-$  in cui  $\text{R}'$  é  $\text{C}_2-\text{C}_4$  lineare o ramificato, l'ossigeno che in  $\text{Y}'$  é legato covalentemente al gruppo  $-\text{N}(\text{O})$ , si trova all'estremità del legame libero indicato nella formula di  $\text{C}_1$ ;  
oppure  $\text{Y}' = \text{Y}_0$  come definito in (I) ma con tre valenze libere invece di 2;



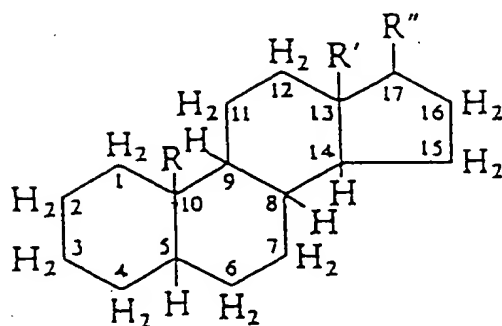
in cui  $X_{2a}$  é un radicale monovalente,

$T_{BII} = (CO)$  quando  $tI = 0$ ,  $T_{BII} = X$  quando  $tII = 0$ , essendo  $X$  come sopra definito;

- $X_2$ , radicale bivalente, é tale che il corrispondente precursore di  $B$ ,  $-T_B-X_2-T_{BI}-$  soddisfi il test 4 o il test 5, precursore in cui le valenze libere di  $T_B$  e di  $T_{BI}$  sono saturate ciascuna con  $OZ$ , con  $Z$  oppure con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  uguali o diversi e hanno i valori di  $Z$  come sopra definito, a seconda che  $T_B$  e/o  $T_{BI} = CO$  oppure  $X$ , in funzione dei valori di  $t$ ,  $t'$ ,  $tx$  e  $txx$ ;
- il precursore di  $C$  quando  $b0 = 0$  é del tipo  $-T_C-Y-H$  in cui la valenza libera di  $T_C$  é saturata con  $OZ$ ,  $Z$  oppure con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  come sopra definiti, ed è tale da soddisfare il test 5;
- $X_{2a}$  radicale monovalente, tale che il corrispondente precursore di  $B_1-T_{BII}-X_{2a}$  soddisfi il test 4 o il test 5, precursore in cui la valenza libera di  $T_{BII}$  é saturata con  $OZ$  o con  $Z$  o con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  uguali o diversi e hanno i valori di  $Z$  come sopra definiti, a seconda che  $T_{BII} = CO$  oppure  $X$ , in funzione dei valori di  $tI$  e  $tII$ ;



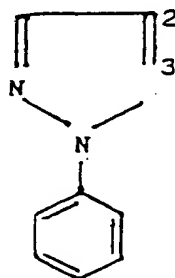
A = R- ha la seguente struttura



in cui al posto degli idrogeni dei gruppi CH o dei due idrogeni dei gruppi CH<sub>2</sub> indicati nella formula generale si possono avere i seguenti sostituenti:

in posizione 1-2: ci può essere un doppio legame;

in posizione 2-3: ci può essere il seguente sostituyente:



in posizione 2: ci può essere Cl, Br;

in posizione 3: ci può essere CO, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Cl, OH;

in posizione 3-4: ci può essere un doppio legame;

in posizione 4-5: ci può essere un doppio legame;

in posizione 5-6: ci può essere un doppio legame;

in posizione 5-10: ci può essere un doppio legame;

in posizione 6: ci può essere Cl, F, CH<sub>3</sub>, -CHO;

in posizione 7: ci può essere Cl, OH;

in posizione 9: ci può essere Cl, F;

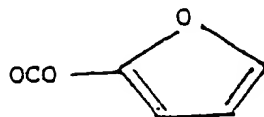
in posizione 11: ci può essere OH, CO, Cl, CH<sub>3</sub>;



in posizione 16: ci può essere  $\text{CH}_3$ ,  $\text{OH}$ ,  $=\text{CH}_2$ ;

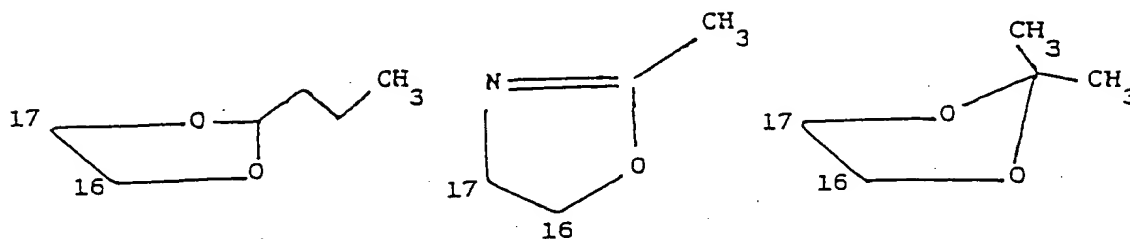
in posizione 17: ci può essere  $\text{OH}$ ,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCO}(\text{O})_{ua}(\text{CH}_2)_{va}\text{CH}_3$ ,  $\text{C}\equiv\text{CH}$

oppure



in cui  $ua$  è un intero uguale a 0 o 1,  $va$  è un intero da 0 a 4;

in posizione 16-17: ci possono essere i seguenti gruppi



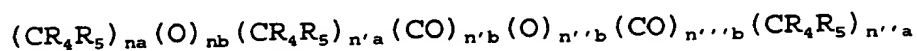
$R$  ed  $R'$ , uguali o diversi fra di loro, possono essere idrogeno o alchili lineari o ramificati da 1 a 4 atomi di carbonio, preferibilmente  $R = R' = \text{CH}_3$ ;

$R''$  è  $-(\text{CO}-\text{L})_t-(\text{L})_{t2}-(\text{X}_o^I)_{t1}-$

in cui  $t$ ,  $t1$  e  $t2$  sono interi uguali o diversi fra loro, uguali a 0 o 1, con la condizione che quando  $t = 0$   $t2 = 1$  e quando  $t = 1$   $t2 = 0$ , e che  $t$  e  $t1$ , oppure  $t2$  e  $t1$ , non possono essere contemporaneamente uguali a 0 quando  $A$  non contiene grup-

pi  $-\text{OH}$ ;

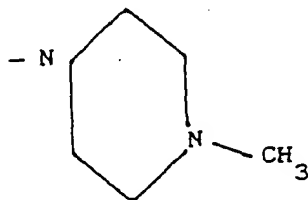
il pontante bivalente  $L$  è scelto fra:



in cui  $na$ ,  $n'a$ , ed  $n''a$ , uguali o diversi tra loro, sono interi da 0 a 6, preferibilmente 1-3;  $nb$ ,  $n'b$ ,  $n''b$  e  $n'''b$ , uguali o diversi tra loro, sono interi uguali a 0 o 1;  $R_4$ ,  $R_5$ ,

uguali o diversi fra loro, sono scelti fra alchile lineare o ramificato da 1 a 5 atomi di carbonio, preferibilmente da 1 a 3;

$X_0^I$  è X come sopra definito ma  $R_{1c}$  è un alchile lineare o ramificato da 1 a 10 atomi di carbonio, oppure uguale a  $X_2^I$  in cui  $X_2^I$  è uguale a OH,  $CH_3$ , Cl,  $N(-CH_2-CH_3)_2$ ,  $SCH_2F$ , SH, oppure



in cui il test 4 è il seguente: è una determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche di concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B o di  $B_1$  a una soluzione metanolica di DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl); dopo aver conservato la soluzione a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti, si legge l'assorbanza della soluzione in esame e di una soluzione contenente solamente DPPH nella stessa quantità, alla lunghezza d'onda di 517 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B o di  $B_1$  verso la produzione di radicali indotta da DPPH attraverso la formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e DPPH e quello della soluzione contenente solo DPPH, il criterio di accettazione dei composti secondo questo test è il seguente: il

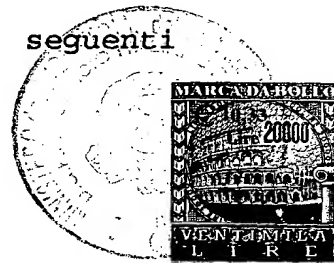
test 4 é soddisfatto dai composti precursori di B o di B<sub>1</sub> se la percentuale di inibizione come sopra definita é maggiore o uguale del 50%;

in cui il test 5 é il seguente: é una determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche di concentrazione 10<sup>-4</sup> M del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>C</sub>-Y-H a una soluzione contenente aliquote di 2 mM di deossiribosio in acqua, 100 mM di tampone fosfato e 1 mM del sale misto Fe<sup>II</sup>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>; dopo aver condizionato la soluzione a 37°C per un'ora si aggiungono, nell'ordine, aliquote di acido tricloroacetico 2,8% e di acido tiobarbiturico 0,5 M, si scalda a 100°C per 15 minuti e si legge l'assorbanza della soluzione in esame a 532 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>C</sub>-Y-H verso la produzione di radicali attraverso la formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

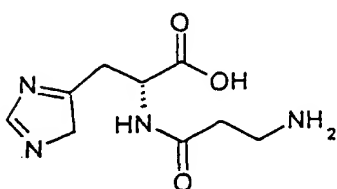
in cui A<sub>s</sub> e A<sub>c</sub> sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e il sale di ferro e quella della soluzione contenente solo il sale di ferro, il composto soddisfa il test 5 quando la percentuale di inibizione come sopra definita del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>C</sub>-Y-H é maggiore o uguale del 50%.

Preferibilmente il composto precursore di B o di B<sub>1</sub> (precursore del radicale X<sub>2</sub> o X<sub>2a</sub> nelle formule (I) e (II) rispettivamente) che soddisfa il test 4, é scelto nelle seguenti

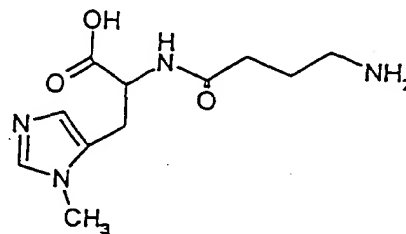


classi di composti:

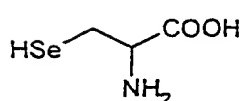
- Amminoacidi, scelti tra i seguenti: L-carnosina (formula CI), anserina (CII), selenocisteina (CIII), selenometionina (CIV), penicilamina (CV), N-acetilpenicilamina (CVI), cisteina (CVII), N-acetilcistena (CVIII), glutathione (CIX) o suoi esteri, preferibilmente estere etilico o isopropilico:



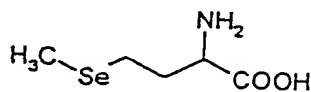
(CI)



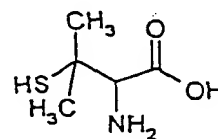
(CII)



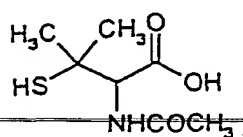
(CIII)



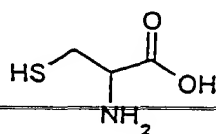
(CIV)



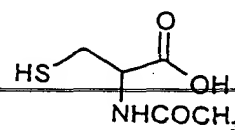
(CV)



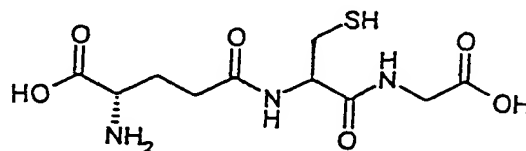
(CVI)



(CVII)

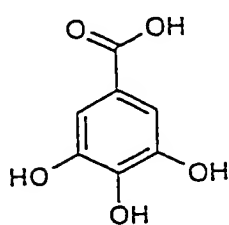


(CVIII)

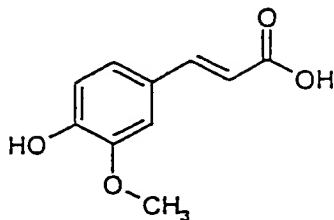


(CIX)

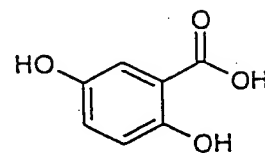
- Idrossiacidi elti tra i seguenti: acido gallico (formula DI), acido ferulico (DII), acido gentisico (DIII), acido citrico (DIV), acido caffeico (DV):



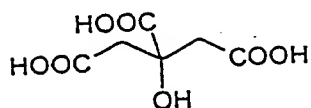
(DI)



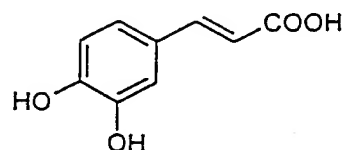
(DII)



(DIII)



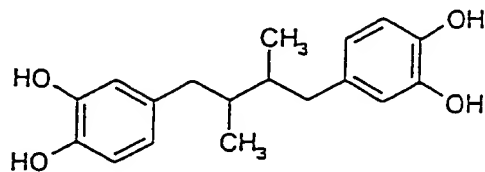
(DIV)



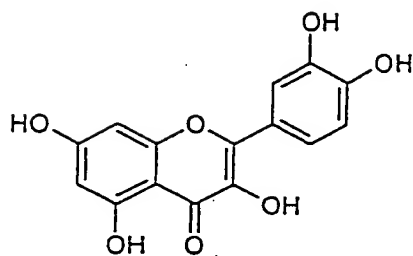
(DV)

- Mono- e polialcool aromatici ed eterociclici, scelti tra i seguenti: acido nordiidroguaiaretico (EI), quercetina (EII), catechina (EIII), kaempferolo (EIV), sulfuretina (EV), acido ascorbico (EVI), acido isoascorbico (EVII), idrochinone (EVIII), gossypol (EIX), acido reductico (EX), metossiidrochinone (EXI), idrossiidrochinone (EXII), propil gallato (EXIII), saccarosio (EXIV), vitamina E (EXV), vitamina A (EXVI), 8-chinololo (EXVII), 3-tert-butyl-4-idrossianisolo (EXVIII), 3-idrossiflavone (EXIX), 3,5-tertbutyl-p-idrossitoulene (EXX), p-tertbutyl fenolo (EXXI), timololo (EXXII), xibornolo (EXXIII), 3,5-di-tertbutyl-4-idrossibenzil-tioglicollato (EXXIV), 4'-idrossibutiranilide (EXXV), guaiacolo (EXXVI), tocolo

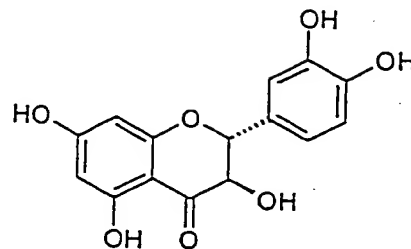
(EXXVII), isoeugenolo (EXXVIII), eugenolo (EXXIX), piperonil alcol (EXXX), allopurinolo (EXXXI):



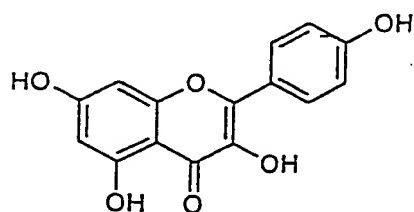
(EI)



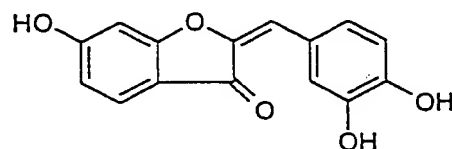
(EII)



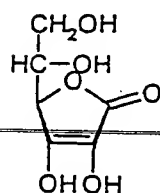
(EIII)



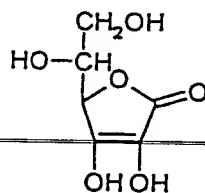
(EIV)



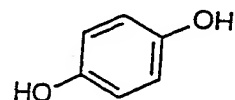
(EV)



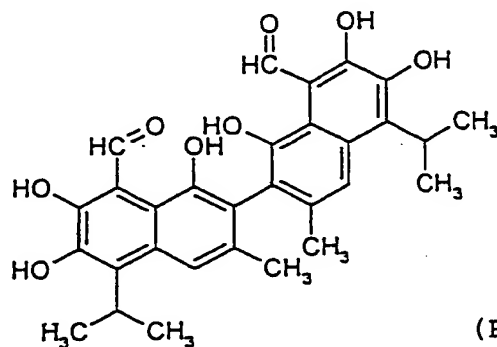
(EVI)



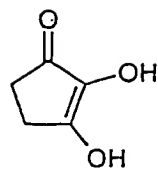
(EVII)



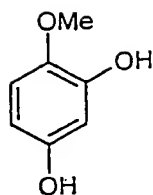
(EVIII)



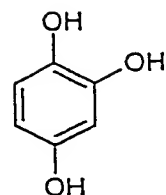
(EIX)



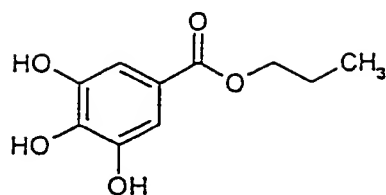
(EX)



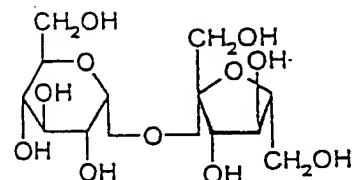
(EXI)



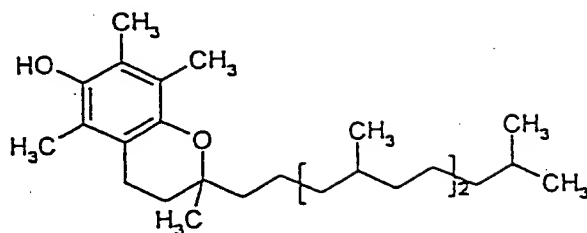
(EXII)



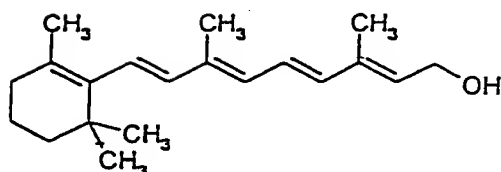
(EXIII)



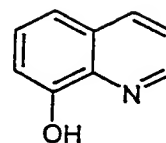
(EXIV)



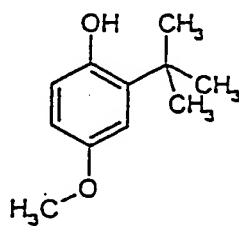
(EXV)



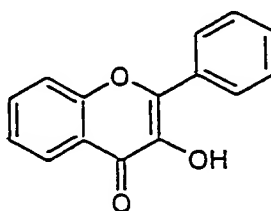
(EXVI)



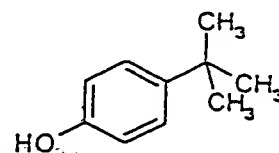
(EXVII)



(EXVIII)

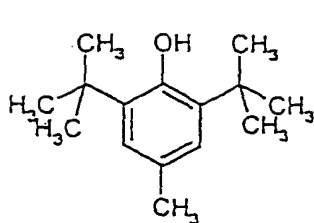


(EXIX)

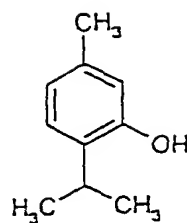


(EXXI)

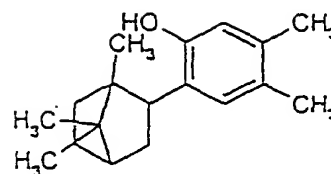




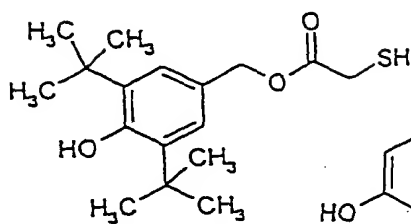
(EXX)



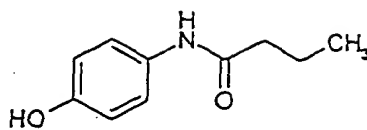
(EXXII)



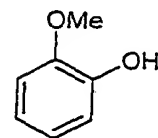
(EXXIII)



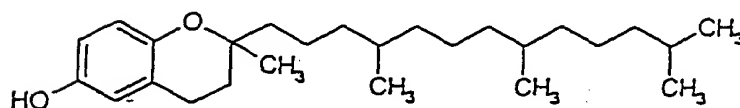
(EXXIV)



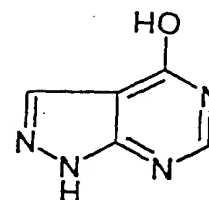
(EXXV)



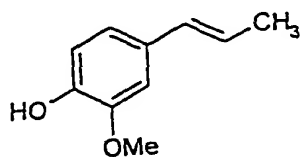
(EXXVI)



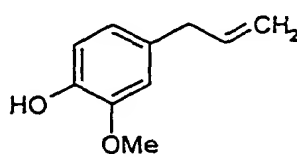
(EXXVII)



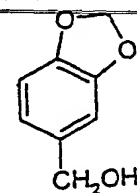
(EXXXI)



(EXXVIII)



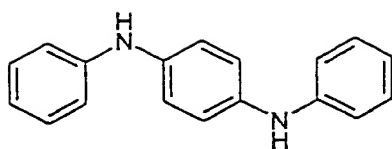
(EXXIX)



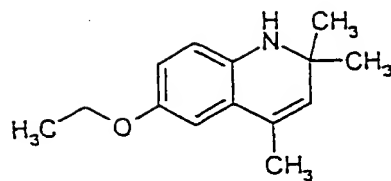
(EXXX)

- Ammine aromatiche ed eterocicliche, scelte tra le seguenti: N, N'-difenil-p-fenilendiammina (MI), etossichina (MII), tionina (MIII), idrossiurea (MIV):

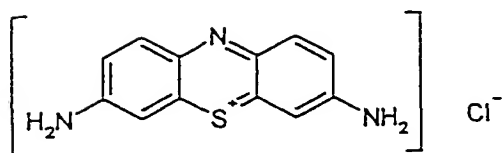




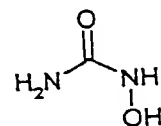
(MI)



(MII)

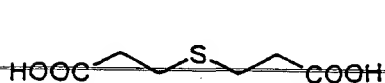


(MIII)

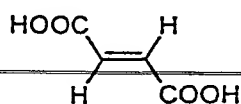


(MIV)

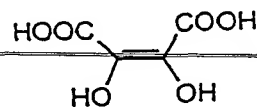
- Composti contenenti almeno una funzione acida libera, scelti tra i seguenti: acido 3,3'-tiodipropionico (NI), acido fumarico (NII), acido diidrossimaleico (NIII), acido tioctico (NIV), acido edetico (NV), bilirubina (NVI), acido 3,4-metilendioossicinnamico (NVII), acido piperonilico (NVIII):



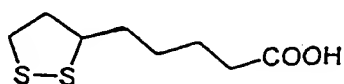
(NI)



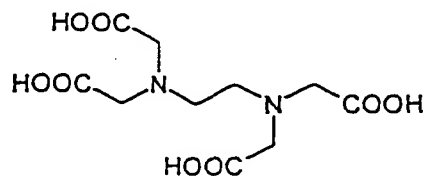
(NII)



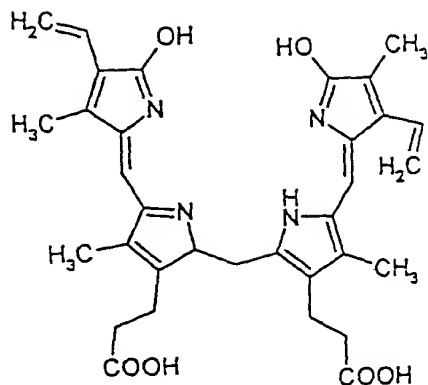
(NIII)



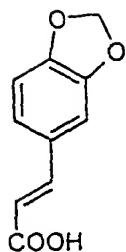
(NIV)



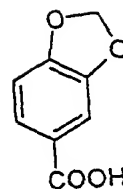
(NV)



(NVI)



(NVII)

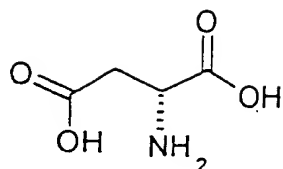


(NVIII)

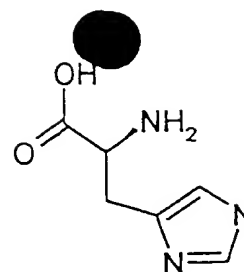
Le sostanze sopra indicate precursori di B o di B<sub>1</sub> vengono preparate secondo i metodi noti in letteratura, ad es. descritti nel "The Merck Index", 12<sup>a</sup> Ed. (1996), qui integralmente incorporato per riferimento. Quando disponibili, si possono impiegare i corrispondenti isomeri e isomeri ottici.

Preferibilmente il composto precursore di B o di B<sub>1</sub> (precursore del radicale X<sub>2</sub> o X<sub>2a</sub> nelle formule (I) e (II) rispettivamente) che soddisfa il test 5, è scelto tra i seguenti composti:

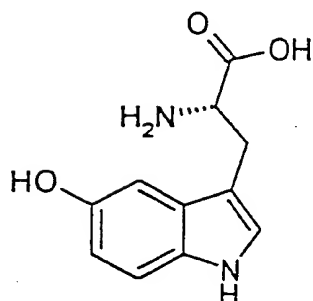
- Aminoacidi: acido aspartico (PI), istidina (PII), 5-idrossitriptofano (PIII), acido 4-tiazolidincarbossilico (PIV), acido 2-oxo-4-tiazolidincarbossilico (PV)



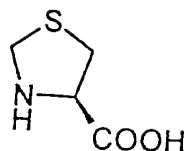
(PI)



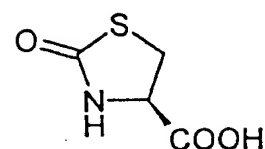
(PII)



(PIII)

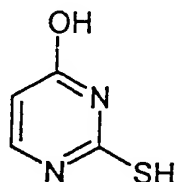


(PIV)



(PV)

- Mono e polialcooli o tioli: 2-tiouracile (QI), 2-mercaptoetanolo (QII), esperidina (QIII), secalciferolo (QIV), 1- $\alpha$ -OH vitamina D2 (QV), flocalcetriolo (QVI), 22-oxacalcetriolo (QVII), il derivato della vitamina D3 esterificato con il radicale della vitamina A (QVIII), il composto di formula (QIX), 24,28-metilene-1 $\alpha$ -idrossivitaminina D2 (QX) il composto derivato dalla 1 $\alpha$ ,25-diidrossivitaminina D2 (QXI), 2-mercaptoimidazolo (QXII).

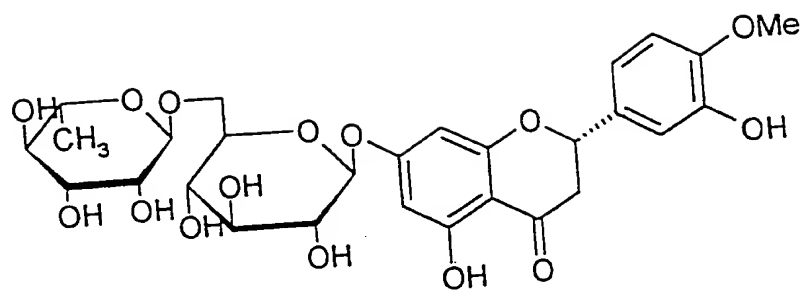


(QI)

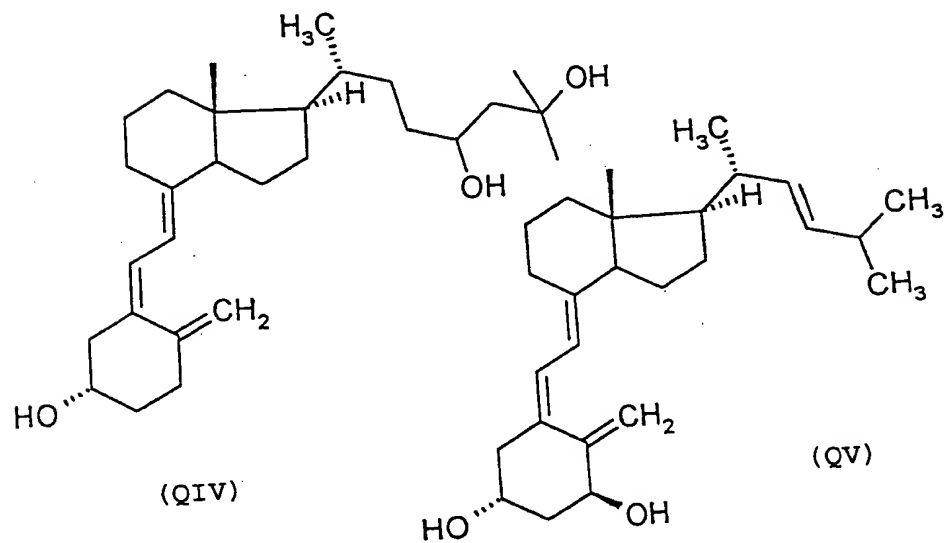


(QII)



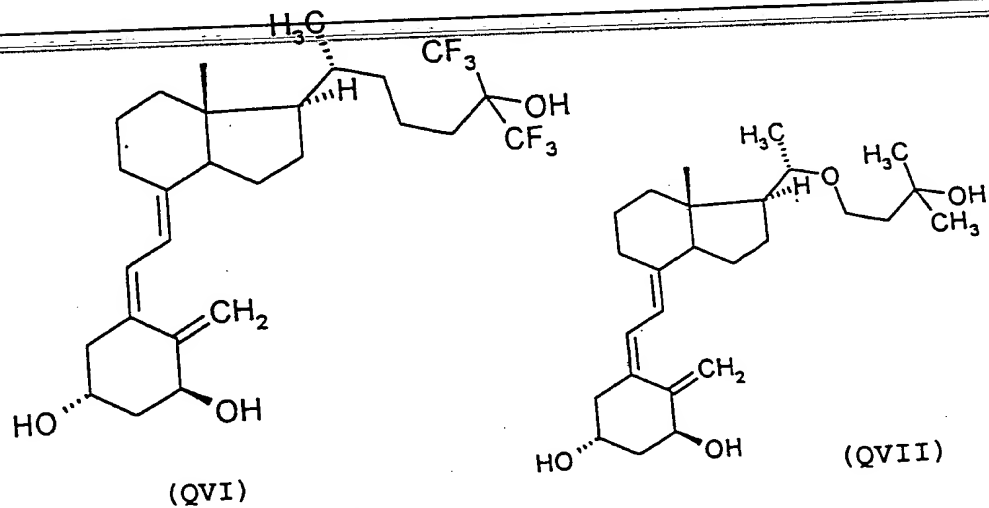


(QIII)



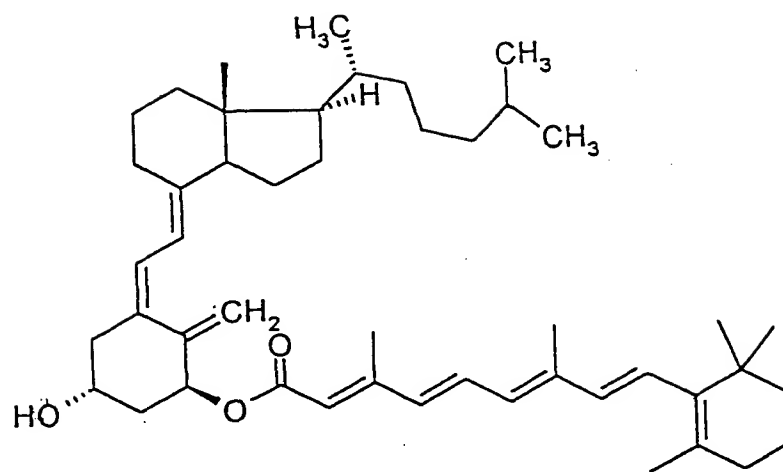
(QIV)

(QV)

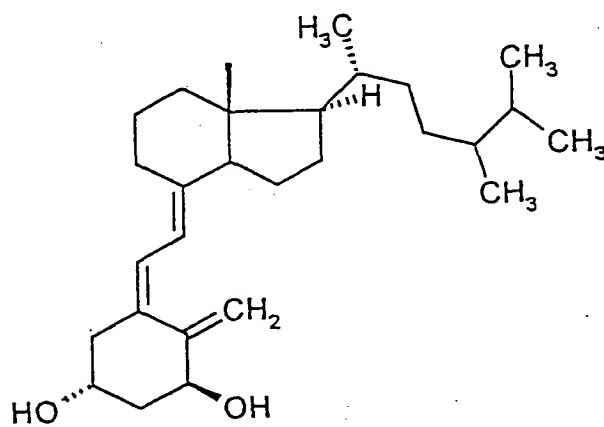


(QVI)

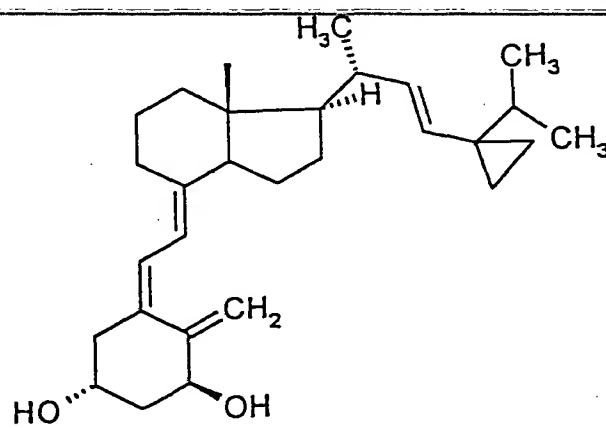
(QVII)



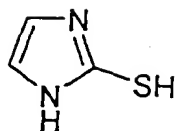
(QVIII)



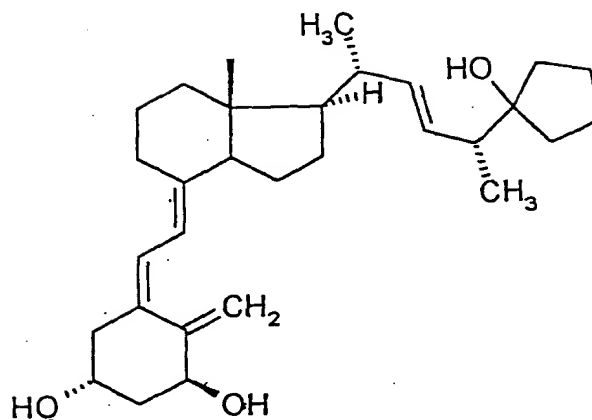
(QIX)



(QX)

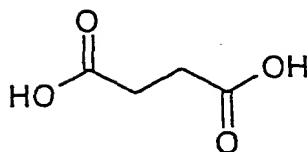


(QXII)



(QXI)

- Acido succinico (RI)



(RI)

I composti precursori di B o di B<sub>1</sub> dei gruppi sopra indicati P, Q ed R vengono preparati secondo i metodi noti in letteratura e descritti, ad esempio, nel "The Merck Index", 12<sup>a</sup> Ed. (1996), qui integralmente incorporato per riferimento.

Il derivato della vitamina D<sub>3</sub> con acido retinoico (QVIII) viene preparato come descritto in JP 93039261 (rif. C.A. 119 117617); il derivato di formula (QIX) secondo EP 562 497; il 24,28-metilene-1 $\alpha$ -idrossivitamina D<sub>2</sub> (QX) se-

condo EP 578 494; composto derivato della idrossivitamina D2 (QXI) secondo EP 549 318.

Preferiti sono i precursori di B e B<sub>1</sub> che soddisfano il test 4.

I test che vengono effettuati per identificare i precursori di B o di B<sub>1</sub> sono in dettaglio i seguenti.

Il test 4 é un saggio colorimetrico che consente di stabilire se i precursori come definiti di B o di B<sub>1</sub> sono in grado di inibire la produzione di radicali da parte di DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) (M.S. Nenseter et Al., Atheroscler. Thromb. 15, 1338-1344, 1995). Vengono preparate soluzioni 100 µM in metanolo delle sostanze in esame, ed una aliquota di esse viene aggiunta a una soluzione 0,1 M metanolica di DPPH. Dopo aver conservato le soluzioni a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti si legge l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 517 nm. Si determina la diminuzione di assorbanza rispetto a quella della soluzione che contiene la stessa concentrazione di DPPH. La capacità del compo-

sto in esame di inibire la produzione di radicali viene espressa attraverso la seguente formula:

$$(1 - A_e/A_c) \times 100$$

in cui A<sub>e</sub> e A<sub>c</sub> sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame assieme a DPPH e della soluzione contenente solo DPPH.

Il precursore di B o di B<sub>1</sub> soddisfa il test 4 se la capa-



capacità di inibire la produzione di radicali, come sopra definita, è uguale o maggiore del 50% alla concentrazione indicata ( $10^{-4}$  M).

Se i precursori di B o di B<sub>1</sub> non soddisfano al test 4 viene effettuato il test 5.

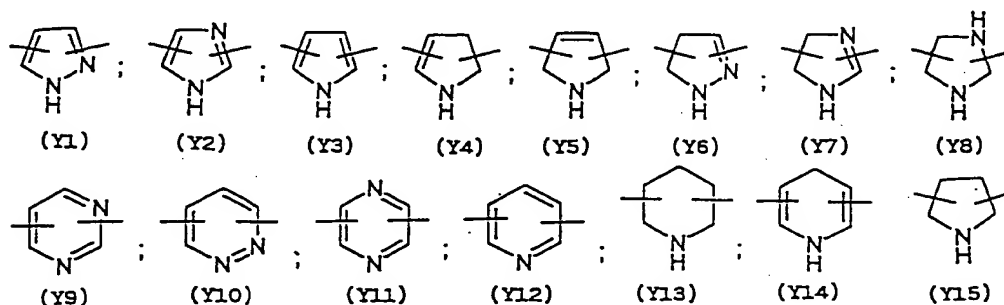
Il test 5 è un saggio colorimetrico in cui aliquote da 0,1 ml di soluzioni in metanolo dei prodotti in esame a concentrazione finale  $10^{-4}$  M vengono aggiunte a una soluzione formata da 0,2 ml di 2 mM desossiribosio, 0,4 ml di tampone fosfato pH 7,4 100 mM e 0,1 ml di 1 mM Fe<sup>II</sup>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> in 2mM HCl. Le provette contenenti le miscele di reazione vengono quindi conservate a 37°C per un'ora. Vengono poi aggiunti in ogni provetta, nell'ordine 0,5 ml di una soluzione 2,8% in acqua di acido tricloroacetico e 0,5 ml di una soluzione acquosa 0,1 M di acido tiobarbiturico. Viene costituito un bianco in cui si aggiunge la stessa aliquota di 0,1 ml di metanolo senza i composti in esame. Si chiudono le provette e si scalda in bagno di olio a 100°C per 15 minuti. Si sviluppa una colorazione rosa la cui intensità è proporzionale alla degradazione ossidativa del desossiribosio. Si raffredda a temperatura ambiente e si determina l'assorbanza delle soluzioni a 532 nm. La percentuale di inibizione del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H verso la produzione di radicali viene calcolata attraverso la formula:

$$(1 - A_0/A_c) \times 100$$



in cui  $A_0$  e  $A_1$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e il sale di ferro e quella della soluzione contenente solo il sale di ferro, il composto soddisfa il test 5 quando la percentuale di inibizione di produzione di radicali come sopra definita da parte del precursore di B o di  $B_1$  o di  $C = -T_c-Y-H$  è maggiore o uguale al 50%;

$Y^3$  nella formula (III) è scelto preferibilmente fra i seguenti:



Il più preferito di  $Y^3$  è  $Y12$  (piridile) sostituito nelle posizioni 2 e 6. I legami possono trovarsi anche in posizione non simmetrica, ad es.  $Y12$  (piridile) può essere sostituito anche in posizione 2 e 3;  $Y1$  (pirazolo) può essere 3,5-disostituito.

I composti secondo la presente invenzione di formula (I) e (II) possono essere trasformati nei corrispondenti sali. Ad esempio un modo per formare i sali è il seguente: qualora sia presente nella molecola un atomo di azoto sufficientemente basico da poter essere salificato, in solvente organico come

ad es. acetone, tetraidrofurano si reagire con una quantità equimolecolare del corrispondente acido, organico o inorganico.

Preferibilmente nella formula del composto dell'invenzione è presente Y o Y' di formula (III).

Esempi di acidi organici sono: acido ossalico, tartarico, maleico, succinico, citrico.

Esempi di acidi inorganici sono: acido nitrico, cloridrico, solforico, fosforico.

Negli steroidi precursori preferibilmente  $R'' = -CO-CH_2OH$ ,  $-CH(CH_3)-CH_2-CH_2-COOH$ .

Negli steroidi precursori sono preferiti quelli aventi la funzione ossidrilica in posizione 3, oppure in posizione 11, oppure aventi in  $R''$  una funzione ossidrilica o carbossilica in posizione terminale.

Gli steroidi precursori di A che si possono citare, e che sono i preferiti, sono quelli sotto elencati, ottenibili secondo i processi noti nell'arte.

---

Si possono menzionare come precursori e relativi processi, quelli ad esempio descritti nel "The Merck Index", 12<sup>a</sup> ed. (1996), qui incorporato integralmente per riferimento. I precursori (secondo la nomenclatura Merck) sono i seguenti, in cui  $H_2$ , H, R, R', R'' hanno il significato indicato nei composti qui elencati: Budesonide, Hydrocortisone, Alclomethasone, Algestone, Beclomethasone, Betamethasone, Chloroprednisone,

Clobetasol, Clobetasone, Clocortolone, Cloprednol, Cortisone, Corticosterone, Deflazacort, Desonide, Desoximethasone, Dexamethasone, Diflorasone Diflucortolone, Difluprednate, Fluazacort, Flucloronide, Flumethasone, Flunisolide, Fluocinolone Acetonide, Fluocinonide, Fluocortyn Butyl, Fluocortolone, Fluorometholone, Fluperolone Acetate, Fluprednidene Acetate, Fluprednisolone, Flurandrenolide, Formocortal, Halcinonide, Halobetasol Propionate, Halometasone, Halopredone Acetate, Hydrocortamate, Loteprednol Etabonate, Medrysone, Meprednisone, Methylprednisolone, Mometasone Furoate, Paramethasone, Prednicarbate, Prednisolone, Prednisolone 25-Diethylaminoacetate, Prednisolone Sodium Phosphate, Prednisone, Prednival, Prednylidene, Rimexolone, Triamcinolone, Triamcinolone Acetonide, 21-Acetoxypregnenolone, Cortivazol, Amcinonide, Fluticasone Propionate, Mazipredone, Tixocortol, Triamcinolone Hexacetonide, acido Ursodesossicolic, acido Chenodesossicolic, Mitatrienediolo, Moxestrol, Etinilestradiolo, Estradiolo, Mestranolo.

---

~~Inaspettatamente i prodotti dell'invenzione delle formule~~

(I) e (II) possiedono indice terapeutico migliorato, in condizioni di stress ossidativo, rispetto agli steroidi precursori.

A titolo illustrativo i test sopra indicati vengono riferiti ai seguenti composti (si vedano le tabelle allegate alla descrizione):



Test 4 (test per il precursore di B e B<sub>1</sub> utilizzato come pontante)

N-acetilcisteina é in grado di inibire del 100% la produzione di radicali indotta da DPPH, quindi soddisfa il test 4. Quindi può essere utilizzata come precursore di B o di B<sub>1</sub>.

L'acido 4-tiazolidincarbossilico non é in grado di inibire la produzione di radicali indotta da DPPH, quindi non soddisfa il test 4 e può essere utilizzato come precursore di B o di B<sub>1</sub> se soddisfa il test 5.

Test 5 (test per il precursore di B e B<sub>1</sub> o di C= -T<sub>c</sub>-Y-H utilizzato come pontante)

La Tabella relativa a questo test mostra che l'acido 4-tiazolidin carbossilico soddisfa il test 5 in quanto l'inibizione é del 100%. Pertanto il composto si può utilizzare come precursore di B o di B<sub>1</sub>, nella formula (I).

I composti dell'invenzione possono essere usati nelle indicazioni terapeutiche del farmaco precursore consentendo di ottenere i vantaggi sopra indicati.

---

I composti di formula (I) o (II) vengono preparati con metodi di sintesi qui sotto indicati.

La scelta delle reazioni per ciascun metodo dipende dal gruppo reattivo presente nella molecola dello steroide, nel composto precursore di B o B<sub>1</sub>, il quale può essere, come sopra si é indicato, bivalente oppure monovalente, e nel composto precursore di C.

Le reazioni vengono effettuate con metodi ben noti nell'arte, che consentono di ottenere i legami tra lo steroide, il composto precursore di B o B<sub>1</sub> e il composto precursore di C come sopra definiti.

Qualora la funzione reattiva dello steroide (ad es. -COOH, -OH) sia impegnata in un legame di tipo covalente, ad es. del tipo estere, ammide, etere, detta funzione può venire ripristinata con i metodi ben noti nell'arte.

Si riportano qui di seguito alcuni schemi di sintesi per ottenere i composti dell'invenzione.

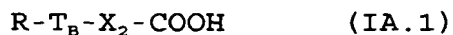
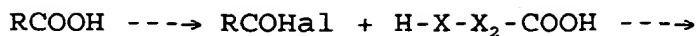
A) Sintesi dei composti di formula (I).

1. Sintesi del composto ottenuto per reazione tra lo steroide ed il composto precursore di B.

1a. Se lo steroide contiene una funzione carbossilica (formula generale: R-COOH) e il gruppo funzionale del composto precursore di B che si lega alla funzione carbossilica ha formula XZ, essendo X come sopra definito e Z = H, le reazioni che si effettuano dipendono dalla natura del secondo gruppo reattivo presente nel composto precursore di B.

1a.1 Se il secondo gruppo reattivo presente nel composto precursore di B è un gruppo carbossilico, lo schema generale della sintesi prevede la formazione iniziale dell'acil alogenuro dello steroide R-COHal (Hal = Cl, Br) e la successiva reazione con il gruppo HX del composto precursore

di B:



$\text{X}_2$ ,  $\text{T}_B$  essendo come sopra definiti.

Se nei due composti in reazione sono presenti altri gruppi funzionali COOH e/o HX, essi devono venire protetti prima della reazione secondo i metodi noti nell'arte; ad esempio come descritto nel volume di Th. W. Greene: "Protective groups in organic synthesis", Harward University Press, 1980.

L'acilalogenuro RCOHal viene preparato secondo i metodi noti nell'arte, ad es. mediante tionil o ossalil cloruro, alogenuri di  $\text{P}^{\text{III}}$  o  $\text{P}^{\text{V}}$  in solventi inerti nelle condizioni di reazione, come ad es. toluene, cloroformio, DMF, ecc. In particolare, se il gruppo HX del composto precursore di B é  $\text{NH}_2$ , oppure OH o SH, lo steroide di formula  $\text{R-COOH}$  viene prima convertito nel corrispondente acil alogenuro RCOHal, come sopra indicato, e poi fatto reagire con il

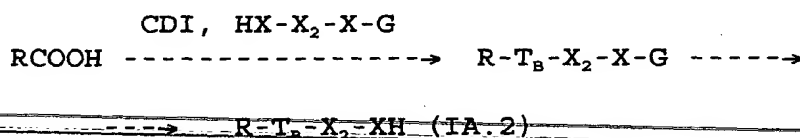
---

gruppo HX del composto precursore di B in presenza di una base organica, come trietilammina, piridina, ecc. impiegando un solvente inerte nelle condizioni di reazione come toluene, tetraidrofurano, ecc. a una temperatura compresa tra  $0^\circ\text{C}$  e  $25^\circ\text{C}$ .

In alternativa alla sintesi precedente, lo steroide di formula  $\text{R-COOH}$  può essere trattato con un agente attivan-

te il carbodile scelto tra N,N'-carbodiimidazolo (CDI), N-idrossibenzotriazolo e dicicloesilcarbodiimide in solvente come ad es. DMF, THF, cloroformio ecc. a una temperatura compresa tra -5°C e 50°C e il composto ottenuto fatto reagire in situ con la funzione reattiva del composto precursore di B per ottenere il composto di formula (IA.1).

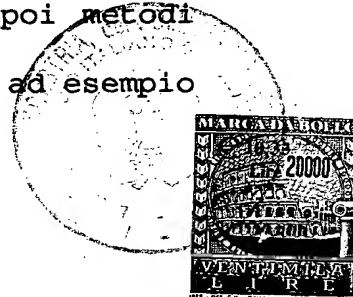
1a.2 Se il composto precursore di B contiene due gruppi funzionali XZ, uguali o diversi tra loro, essendo X come sopra definito e Z = H, lo steroide avente formula R-COOH viene prima trattato con un agente attivante il carbossile, come sopra descritto in 1a.1, e poi con il composto precursore di B, dopo aver protetto uno dei due gruppi reattivi HX, ad es. con acetile oppure ter-butilossicarbonile, ripristinando la funzione iniziale alla fine della sintesi. Lo schema è il seguente:



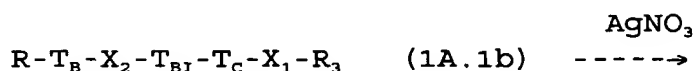
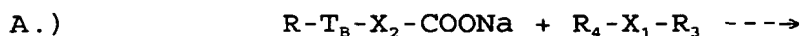
in cui X, T<sub>B</sub>, X<sub>2</sub> sono come sopra definiti e G è un gruppo protettivo della funzione HX.

## 2. Sintesi del nitrossiderivato.

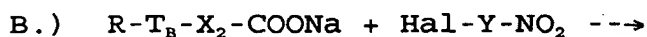
2a.1 Se il composto che si ottiene alla fine del precedente passaggio 1a. ha formula (IA.1), si può convertire l'acido nel corrispondente sale sodico e seguire poi metodi noti nell'arte per preparare il composto finale, ad esempio



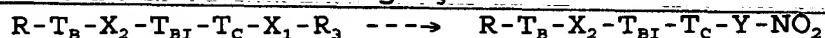
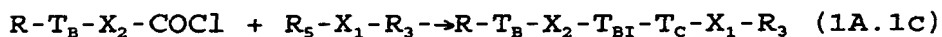
secondo uno degli schemi di sintesi seguenti:



in cui  $T_B$ ,  $X_2$ ,  $T_{BI}$ ,  $T_C$  sono come sopra definiti,  $R_4$  é scelto tra Cl, Br,  $Y$  é come sopra definito,  $X_1$  é il radicale  $Y$  privo dell'atomo di ossigeno,  $R_3$  é Cl, Br, Iodio, OH. Se  $R_3 = OH$  il composto di formula (1A.1b) viene sottoposto ad alogenazione, ad es. con  $PBr_3$ ,  $PCl_5$ ,  $SOCl_2$ ,  $PPh_3 + I_2$ , e poi fatto reagire con  $AgNO_3$  in solvente organico come acetonitrile, tetraidrofurano. Se  $R_3$  é Cl, Br, Iodio, il composto di formula (1A.1b) viene fatto reagire direttamente con  $AgNO_3$  come sopra indicato.



C.)

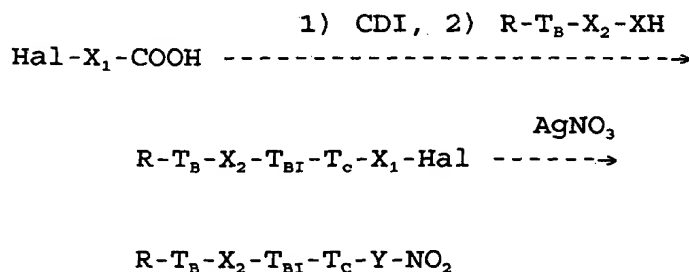


in cui  $R_5 = OH$  oppure  $NHR_{1c}$ , essendo  $R_{1c}$ ,  $R_3$  e gli altri simboli come sopra definiti.

Se  $X_1$  é un alchile lineare  $C_4$ , si fa reagire il corrispondente acido  $R-T_B-X_2-COOH$  con trifenilfosfina in presenza di un agente alogenante come  $CBr_4$  oppure N-bromosuccinimide in tetraidrofurano ottenendo il composto (1A.1c) in cui  $R_3 = Br$ .



2a.2 Se il composto ottenuto alla fine del passaggio precedente 1a. ha formula (IA.2), il nitrossiderivato corrispondente viene ottenuto trattando un acido alogeno-carbossilico di formula  $\text{Hal-X}_1\text{-COOH}$ , essendo  $\text{X}_1$  come sopra definito, dapprima con un agente attivante il carbossile come descritto in 1A.1, e poi con il composto di formula (Ia.2), ottenendo un alogeno derivato, che viene isolato e poi sciolto in solvente organico, (rif. il paragrafo 2a.1), e trattato con nitrato d'argento. Lo schema di reazione complessivo é il seguente:



in cui  $\text{T}_B$ ,  $\text{X}_2$ ,  $\text{T}_{\text{BI}}$ ,  $\text{T}_C$ ,  $\text{Y}$  sono come sopra definiti.

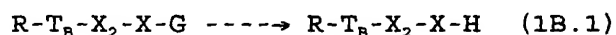
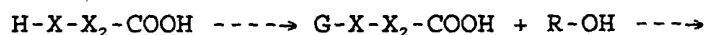
In alternativa, si può usare l'alogenuro  $\text{Hal-X}_1\text{-COCl}$  in cui  $\text{Hal}$  é preferibilmente bromo, che viene fatto reagire con il composto di formula (IA.2).

1b. Se la funzione reattiva dello steroide é  $\text{-OH}$  (formula generale:  $\text{R-OH}$ ), i due gruppi funzionali presenti sul composto precursore di B possono essere i seguenti:

1b.1 Un gruppo carbossilico, che reagisce con la funzione  $\text{OH}$  dello steroide, ed un gruppo  $\text{HX}$ , essendo quest'ultimo gruppo reattivo del composto precursore di B uguale o diverso dal gruppo funzionale dello steroide. La formula

del composto precursore di B è del tipo  $H-X-X_2-COOH$ , in cui X e  $X_2$  sono come sopra definiti.

La funzione H-X- del composto precursore di B viene protetta secondo i metodi noti nell'arte e il carbossile viene fatto reagire, come sopra indicato, secondo il seguente schema:



Alla fine della reazione si ripristina la funzione HX del composto precursore di B.

1b.2 Se il composto precursore di B contiene due gruppi carbossilici, viene trattato con una quantità equimolare di un agente attivante il carbossile nelle condizioni in precedenza descritte in 1a.1, e poi fatto reagire con la funzione reattiva OH della molecola dello steroide. Eventuali altre funzioni reattive di tipo HX presenti nei due composti devono essere adeguatamente protette come in precedenza indicato. Si ottiene alla fine un composto di formula  $R-T_B-X_2-COOH$  (1B.2).

2b. Sintesi del nitrossiderivato.

2b.1 Per ottenere il nitrossiderivato finale partendo dal composto di formula  $R-T_B-X_2-X-H$  (1B.1), ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.1, si fa reagire il composto (1B.1) con un alogenoacido di formula  $Hal-X_1-COOH$  che sia stato trattato come descritto in precedenza nel para-

grafo 1a.1, si fa reagire con il corrispondente cloruro dell'alogenoacido, il composto risultante viene sciolto in solvente organico, ad es. acetonitrile o tetraidrofurano, e si fa reagire con nitrato di argento.

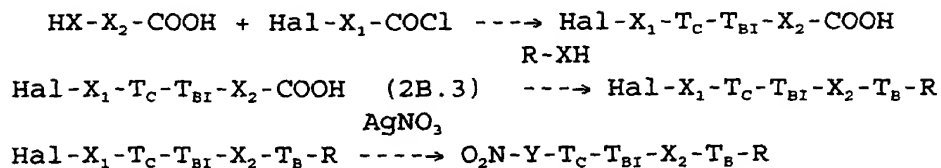
2b.2 Per ottenere il nitrossiderivato finale partendo dal composto di formula  $R-T_B-X_2-COOH$  (1B.2), ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.2, si trasforma l'acido nel corrispondente sale sodico, si fa reagire con un composto  $R_4-X_1-R_3$ , in precedenza definito nella schema di reazione A. del paragrafo 2a.1, ottenendo secondo il medesimo procedimento ivi indicato il nitrossiderivato finale. In alternativa, se  $X_1$  è un alchile lineare  $C_4$ , si fa reagire l'acido (1B.2) con trifenilfosfina in presenza di un agente alogenante come  $CBR_4$  o N-bromosuccinimide in tetraidrofurano e il composto risultante sciolto in solvente organico ad es. acetonitrile, tetraidrofurano, si fa reagire con argento nitrato.

2b.3 In alternativa al procedimento di sintesi secondo 1b.1 e

2b.1, è possibile far reagire in un primo passaggio la funzione  $HX-$  del composto precursore di B  $HX-X_2-COOH$  con il cloruro acilico di un alogenoacido di formula  $Hal-X_1-COCl$ , in cui  $Hal$  è preferibilmente  $Br$ , e successivamente la funzione carbossilica del composto così ottenuto, con lo steroide di formula  $R-OH$ . Nel terzo ed ultimo passaggio il gruppo  $-Hal$  viene sostituito



con  $-\text{ONO}_2$  secondo il procedimento descritto in 2b.1. Lo schema di reazione è il seguente:



in cui  $T_c$ ,  $T_{\text{BI}}$ ,  $T_B$ ,  $X_2$ ,  $X_1$ ,  $Y$  sono come sopra definiti.

Nel precedente schema la nitratura può essere in alternativa effettuata sul composto acido di formula (2B.3).

Nei processi sopra indicati non viene effettuata la reazione dello steroide con il precursore di B per i composti di formula (I) quando  $b_0 = 0$ , e nella reazione con il composto precursore di C si utilizza direttamente lo steroide con la sua funzione reattiva.

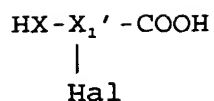
B) Sintesi dei composti di formula (II).

1a. Se la funzione reattiva dello steroide è un gruppo carbossilico e il composto precursore di  $B_1$  contiene un solo gruppo funzionale reattivo di formula  $\text{XH}$ , essendo  $X$  come sopra definito, lo steroide viene inizialmente convertito

---

nel corrispondente acil-alogenuro ( $\text{RCOCl}$ ), oppure trattato con un agente attivante il carbossile come descritto in 1a.1, e poi fatto reagire con la funzione  $\text{HX}$  di un composto alogeno-acido, detta funzione essendo uguale o diversa da quella presente sul composto precursore di  $B_1$ , detto alogeno-acido avente formula:

---



(IIA.1)

in cui  $X_1'$  é  $Y'$  come sopra definito senza l'atomo di ossigeno attraverso il quale é legato il gruppo  $\text{-NO}_2$ ,  $X$  e  $\text{Hal}$  sono come sopra definiti.

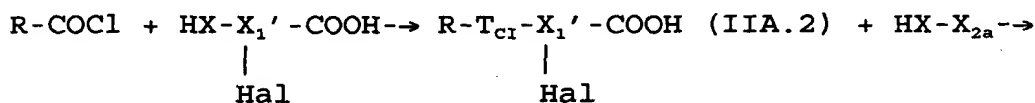
Il composto (IIA.1) può venire ottenuto con i metodi noti nell'arte.

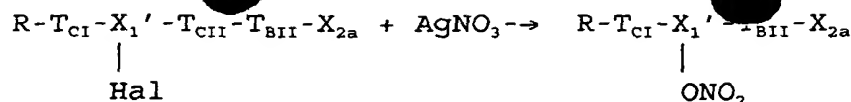
Ad es. quando  $X = \text{NH}$  si può ottenere dal corrispondente idrossi-aminoacido, proteggendo il gruppo amminico tramite il corrispondente terbutil-ossicarbonil derivato e trasformando la funzione ossidrilica in gruppo alogeno come descritto per l'alogenazione del composto (1A.1b) in 2a.1.

La funzione carbossilica libera del composto risultante dalla reazione con la molecola dello steroide viene fatta reagire con la funzione presente nella molecola del precursore di  $B_1$ , come in precedenza illustrato in 1a.1 per la reazione tra lo steroide di formula  $\text{R-COOH}$  ed il com-

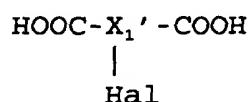
---

posto precursore di  $B$ . Nel passaggio finale l'atomo di alogeno ( $\text{Hal}$ ) presente sul radicale  $X_1$  viene sostituito con un gruppo  $\text{ONO}_2$  aggiungendo  $\text{AgNO}_3$  a una soluzione organica del composto. Lo schema di reazione é il seguente, esemplificato partendo dell'alogenuro  $\text{RCOCl}$ :





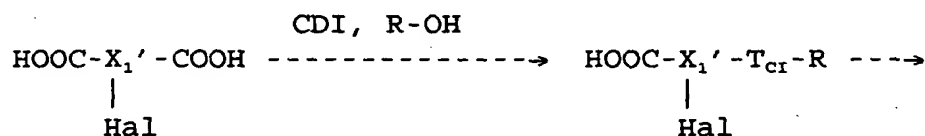
- 1b. Se la funzione reattiva dello steroide é un gruppo OH ed il composto precursore di B<sub>1</sub> contiene un gruppo reattivo di formula generale XH, essendo HX in cui X é come sopra definito, uguale o diverso da OH, la sintesi viene realizzata partendo da un composto alogenodiacido di formula

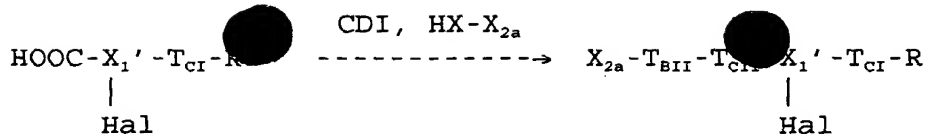


essendo X<sub>1</sub>' come sopra definito, detto composto essendo preparato dal corrispondente idrossi-diacido come descritto per l'alogenazione del composto (1A.1b) in 2a.1. Il composto alogenodiacido viene trattato con una quantità equimolare di un agente attivante il carbossile, nelle condizioni in precedenza descritte in 1a.1., e si fa poi reagire con la funzione reattiva della molecola dello steroide. Nel successivo passaggio la seconda funzione carbossilica viene trattata con un agente attivan-

---

te, come in precedenza fatto per la prima, e fatta reagire con il composto precursore di B<sub>1</sub> secondo il seguente schema:

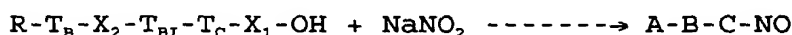




L'atomo di alogeno viene poi sostituito con il gruppo  $\text{ONO}_2$  come sopra si é indicato.

3. Sintesi dei nitroso derivati di formula (I).

3a.1 Il composto di formula (1A.1b) in cui  $\text{R}_3 = \text{OH}$  viene fatto reagire con sodio nitrito in un solvente costituito da una miscela di acqua con tetraidrofurano in presenza di acido cloridrico. La reazione é ampiamente illustrata nell'arte nota. Lo schema generale é il seguente:



3a.2 Se il composto ottenuto alla fine del passaggio A ha formula (IA.2) il nitroso derivato corrispondente viene ottenuto trattando un idrossiacido di formula  $\text{HO-X}_1\text{-COOH}$  essendo  $\text{X}_1$  come sopra definito, dapprima con un agente attivante il carbossile, come descritto in 1a.1, poi con (1A.2) e il prodotto risultante con sodio nitrito come descritto in 3a.1.

3b.1 Per ottenere il nitroso derivato partendo dal composto di formula  $\text{R-T}_B\text{-X}_2\text{-XH}$  (1B.1) ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.1, si fa reagire il composto (1B.1) con un idrossiacido come descritto in 3a.2.

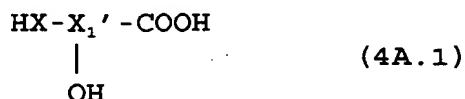
3b.2 Per ottenere il nitroso derivato dal composto di formula  $\text{R-T}_B\text{-X}_2\text{-COOH}$  (1B.2) ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.2, si trasforma l'acido nel sale sodico e



si fa reagire con un composto Hal-X<sub>1</sub>-OH come in precedenza descritto e l'alcool ottenuto si tratta come descritto in 3a.1.

4) Sintesi dei nitroso derivati di formula (II).

4a.1 Se la funzione reattiva dello steroide é un gruppo carbossilico (formula generale R-COOH) e il composto precursore di B<sub>1</sub> contiene un solo gruppo funzionale reattivo di formula XH, essendo X come sopra definito, R-COOH viene inizialmente convertito nel corrispondente acil-alogenuro, oppure trattato con un agente attivante il carbossile come descritto in 1a.1, e poi fatto reagire con la funzione HX di un composto idrossi-acido, detta funzione essendo uguale o diversa da quella presente sul composto precursore di B<sub>1</sub>, detto idrossi-acido avente formula:



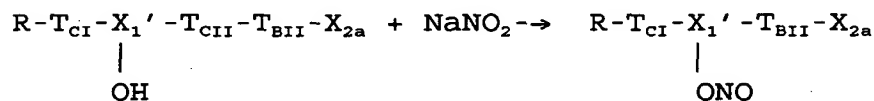
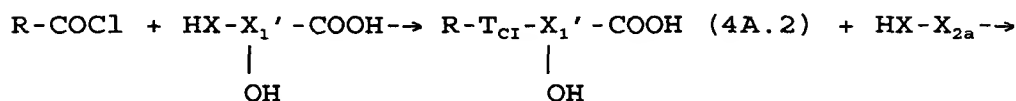
in cui X<sub>1</sub>' é Y' come sopra definito senza l'atomo di ossigeno attraverso il quale é legato il gruppo -NO, X é come sopra definito.

La funzione carbossilica libera del composto risultante dalla reazione con la molecola dello steroide viene fatta reagire con la funzione presente nella molecola del composto precursore di B<sub>1</sub>, come in precedenza illustrato in 1a.1 per la reazione tra R-COOH ed il composto precursore di B. Nel passaggio finale l'alcool viene trasformato nel

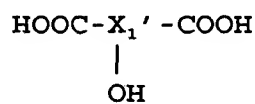


nitroso-deri come descritto in 3a.1.

Lo schema di reazione é il seguente, esemplificato partendo dall'acilalogenuro  $\text{RCOCl}$ :



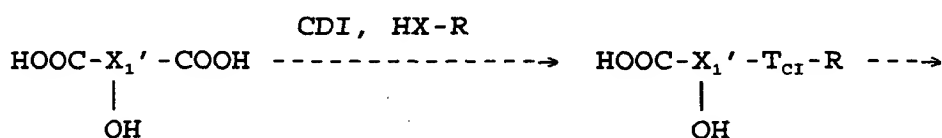
- 4b. Se la funzione reattiva dello steroide é un gruppo OH ed il composto precursore di  $\text{B}_1$  contiene un gruppo reattivo di formula generale  $\text{XH}$ , essendo  $\text{HX}$  in cui  $\text{X}$  é come sopra definito, uguale o diverso da OH, la sintesi viene realizzata partendo da un composto idrossidiacido di formula

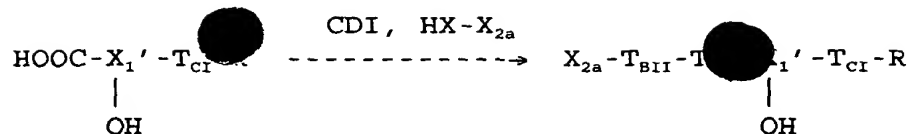


essendo  $\text{X}_1'$  come sopra definito, detto composto idrossidiacido viene trattato con una quantità equimolare di un agente attivante il carbossile, nelle condizioni in precedenza descritte in 1a.1., e si fa poi reagire con la

---

funzione reattiva dello steroide. Nel successivo passaggio la seconda funzione carbossilica viene trattata con un agente attivante, come in precedenza fatto per la prima, e fatta reagire con il composto precursore di  $\text{B}_1$  secondo il seguente schema:





Il composto ottenuto viene fatto reagire come descritto in 3a.1.

I composti oggetto della presente invenzione sono formulati nelle corrispondenti composizioni farmaceutiche per uso parenterale, orale e topico secondo le tecniche ben note nel ramo, unitamente agli usuali eccipienti; si veda ad es. il volume "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15<sup>a</sup> ed.

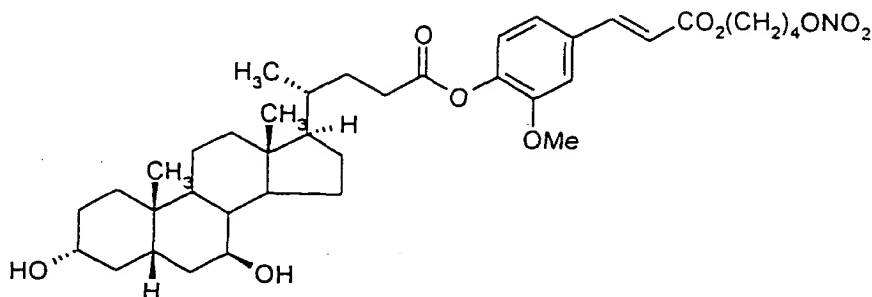
La quantità su base molare del principio attivo in queste formulazioni é la medesima, o inferiore, rispetto a quella usata del corrispondente farmaco precursore.

Le dosi giornaliere somministrabili sono quelle dei farmaci precursori, o eventualmente inferiori. Le dosi giornaliere si possono trovare nelle pubblicazioni del ramo, come ad es nel "Physician's Desk reference".

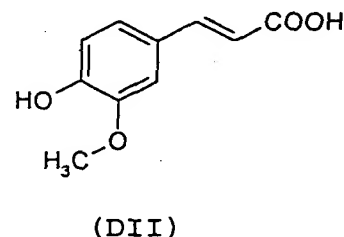
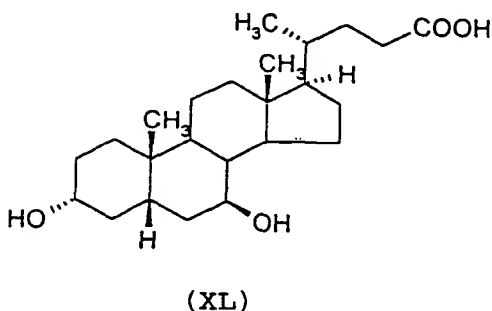
Gli esempi che seguono hanno lo scopo di illustrare l'invenzione e non devono essere intesi come limitativi della medesima.

## ESEMPIO 1

Preparazione di acido 3-[4-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\beta$ )-3,7-diidrossicolan-24-oilossi]-3-metossifenil]-2-propenoico 4-nitroossibutil estere

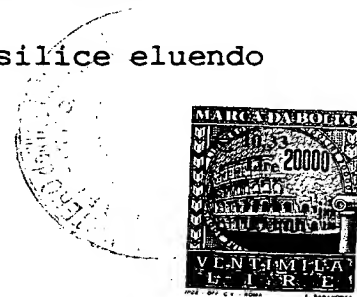


in cui lo sterioide precursore è acido ursodesossicolicico di formula (XL), il precursore di B è acido ferulico di formula (DII):



a) sintesi dell'acido 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico 4-bromobutil estere

A una soluzione di acido 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico (10 g, 51,5 mmoli) in THF (400 ml) si aggiungono trifenilfosfina (2,7 g, 10,3 mmoli) e carbonio tetrabromuro (34,16 g, 10,3 mmoli) e si lascia a temperatura ambiente, sotto agitazione magnetica, per 48 ore. Si filtra il solido e quindi si evapora a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto si purifica per cromatografia su colonna di gel di silice eluendo



con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottengono di acido 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico 4-bromobutil estere. P.f.=86-89°C.

b) Sintesi dell'acido 3-[4-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\beta$ )-3,7-diidrossicolan-24-oilossi]-3-metossifenil]-2-propenoico 4-bromobutil estere

Ad una soluzione di acido (3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\beta$ )-3,7-diidrossicolan-24-oico (2,9 g, 7,38 mmoli) sciolto in cloroformio (25 ml) e dimetilacetamide (25 ml), si aggiunge sotto agitazione acido 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico 4-bromobutil estere (2,73 g, 8,28 mmoli). Alla soluzione raffreddata a 0°C, tenuta sotto agitazione, si aggiungono N,N'-dicicloesilcarbodiimide (2 g, 9,7 mmoli) e 4-dimetilamino piridina (100 mg, 0,81 mmoli). Dopo 1 ora si porta a temperatura ambiente, dopo 24 ore si filtra il precipitato, si evapora il solvente a pressione ridotta. Il residuo si riprende con etile acetato (150 ml) e si lava con acqua (3X 100 ml). Dopo aver anidrificato la fase organica con sodio solfato si evapora il solvente. Il grezzo ottenuto si purifica per cromatografia su colonna di gel di

---

silice eluendo con n-esano/etile acetato 1/9. Si ottengono 2,5 g di acido 3-[4-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\beta$ )-3,7-diidrossicolan-24-oilossi]-3-metossifenil]-2-propenoico 4-bromobutil estere.

c) Sintesi dell'acido 3-[4-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\beta$ )-3,7-diidrossicolan-24-oilossi]-3-metossifenil]-2-propenoico 4-nitroossibutil estere

A una soluzione di acido 3-[4-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\beta$ )-3,7-diidrossicolan-24-oilossi]-3-metossifenil]-2-propenoico 4-bromobutil

estere (2,3 g, 3, mmoli) in acetonitrile (1 ml) e tetraidrofurano (5 ml) si aggiunge sotto agitazione nitrato di argento (0,84 g, 4,94 mmoli) e si scalda a 80°C sotto agitazione magnetica per 6 ore. Al termine della reazione si filtra il precipitato e si evapora il solvente. Il grezzo ottenuto si purifica per cromatografia su colonna di gel di silice eluendo con cloruro di metilene/etile acetato 3/7. Si ottengono 1,5 g di acido 3-[4-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\beta$ )-3,7-diidrossicolan-24-oilossi]-3-metossifenil]-2-propenoico 4-nitroossibutil estere. Resa totale 32%.

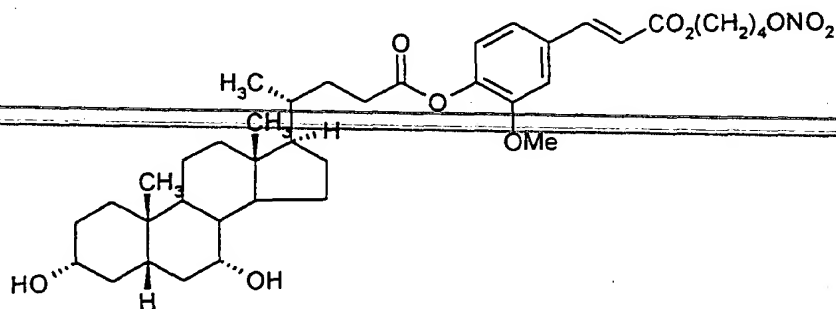
#### Analisi elementare

Calc. C 66,55% H 8,08% N 2,04%

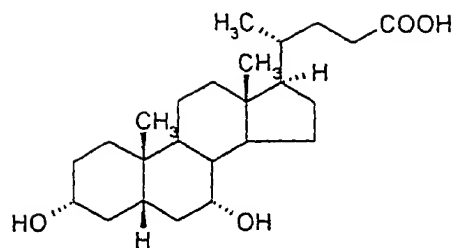
Trov. C 66,59% H 8,14% N 1,99%

#### ESEMPIO 2

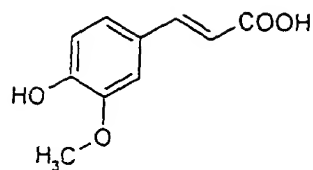
Preparazione di acido 3-[4-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-3,7-diidrossicolan-24-oilossi]-3-metossifenil]-2-propenoico 4-nitroossibutil estere



in cui lo steroide precursore è acido chenodesossicolico di formula (XLI) e il precursore di B è acido ferulico di formula (DII)



(XLI)



(DII)

Il composto viene preparato seguendo la procedura riportata nell'esempio 1. Resa totale 28%.

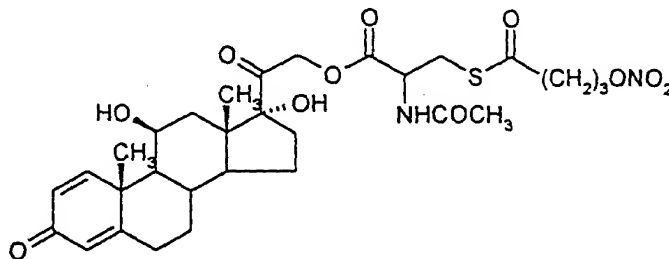
#### Analisi elementare

Calc. C 66,55% H 8,08% N 2,04%

Trov. C 66,64% H 8,13% N 1,94%

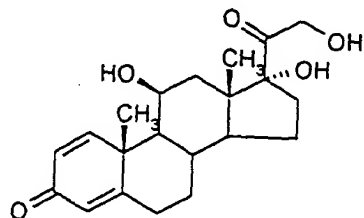
#### ESEMPIO 3

Preparazione di (11 $\beta$ )-11,17-diidrossi-21 [N-acetil-S-(4-nitrosibutirroil) cisteinilossi]-pregn-1,4-diene-3,20-dione

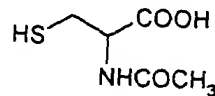


in cui lo steroide precursore è prednisolone di formula (XLII)

e il precursore di B è N-acetil cisteina di formula (CVIII)



(XLII)



(CVIII)

## a) Sintesi di N-acetil-S-(4-bromobutirroil)cisteina

Una soluzione di acido 4-bromobutirrico (5,1 g, 30,6 mmoli) e 1,1'-carbonildiimidazolo (5,61 g, 34,6 mmoli) in cloroformio (50 ml) viene lasciata a temperatura ambiente sotto agitazione per 1 ora. Alla miscela di reazione sotto agitazione si aggiunge N-acetil cisteina (5 g, 30,6 mmoli) sciolta in N,N-dimetilformammide (5 ml) e sodio etilato (50 mg). Dopo 24 ore la soluzione si lava con HCl 1% e salamoia, la fase organica si anidrifica su sodio solfato e si evapora a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto si purifica per cromatografia su colonna di gel di silice, eluente etile acetato/cloroformio 7/3. Si ottiene N-acetil-S-(4-bromobutirroil)cisteina.

b) Sintesi di (11 $\beta$ )-11,17-Diidrossi-21[N-acetil-S-(4-bromobutirroil)cisteinilossi]-pregn-1,4-diene-3,20-dione

A una soluzione di N-acetil-S-(4-bromobutirroil)cisteina (2,7 g, 8,64 mmoli) e (11 $\beta$ )-11,17,21-triidrossipregn-1,4-diene-3,20-dione (3,2 g, 8,86 mmoli) in tetraidrofurano (100 ml) raffreddata a 0°C e tenuta sotto agitazione, si aggiungono N,N'-dicicloesilcarbodiimide (1,9 g, 9,2 mmoli) e 4-dimetilaminopiridina (100 mg, 0,8 mmoli). Dopo 1 ora si porta a temperatura ambiente, dopo 24 ore si filtra il precipitato, si evapora il solvente a pressione ridotta. Il residuo si riprende con etile acetato (150 ml) e si lava con acqua (3X 100 ml). Dopo aver anidrificato la fase organica con sodio solfato si evapora il solvente. Il grezzo ottenuto si purifica per cro-



matografia su colonna di gel di silice eluendo con cloroformio/etil acetato 3/7. Si ottengono 0,94 g di (11 $\beta$ )-11,17-diidrossi-21[N-acetil-S-(4-bromobutirroil)cisteinilossi]-pregn-1,4-diene-3,20-dione.

c) Sintesi di (11 $\beta$ )-11,17-Diidrossi-21[N-acetil-S-(4-nitroossibutirroil)cisteinilossi]-pregn-1,4-diene-3,20-dione

A una soluzione di (11 $\beta$ )-11,17-diidrossi-21[N-acetil-S-(4-bromobutirroil)cisteinilossi]-pregn-1,4-diene-3,20-dione (0,8 g, 1,28 mmoli) in acetonitrile (10 ml) e tetraidrofurano (5 ml) si aggiunge sotto agitazione nitrato di argento (0,4 g, 2,35 mmoli) e si scalda a 80°C sotto agitazione magnetica per 20 ore. Al termine della reazione si filtra il precipitato e si evapora il solvente. Il grezzo ottenuto si purifica per cromatografia su colonna di gel di silice eluendo con cloruro di metilene/etilacetato 3/7. Si ottiene (11 $\beta$ )-11,17-diidrossi-21[N-acetil-S-(4-nitroossibutirroil)cisteinilossi]-pregn-1,4-diene-3,20-dione. Resa totale 12%.

#### Analisi elementare

---

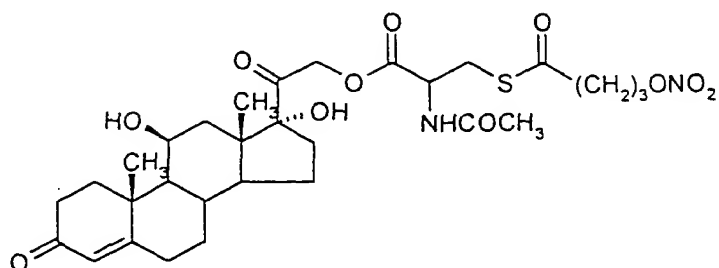
Calc.	C 56,59%	H 6,33%	N 4,40%	S 5,04%
Trov.	C 56,63%	H 6,38%	N 4,36%	S 5,01%

---

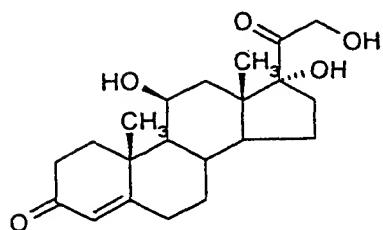


# ESEMPIO 4

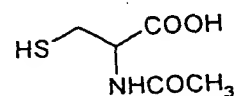
Preparazione di (11 $\beta$ )-11,17-Diidrossi-21[N-acetil-S-(4-nitro-ossibutirroil)cisteinilossi]-pregn-4-ene-3,20-dione



in cui lo steroide precursore è idrocortisone di formula (XLI<sup>III</sup>) e il precursore di B è N-acetil cisteina di formula (CVI<sup>III</sup>)



(XLI<sup>III</sup>)



(CVI<sup>III</sup>)

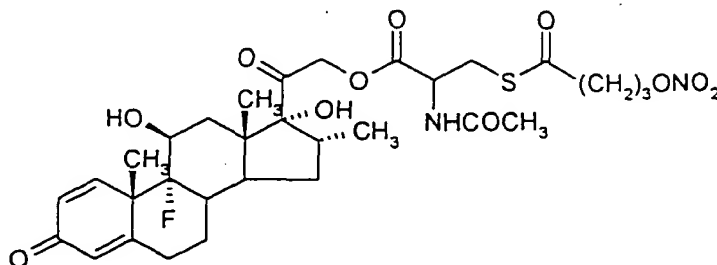
Il composto viene preparato seguendo la procedura riportata nell'esempio 3. Resa totale 15%.

## Analisi elementare

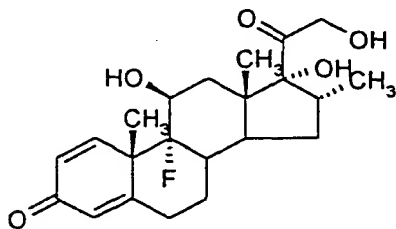
Calc.	C	56,37%	H	6,78%	N	4,39%	S	5,02%
Trov.	C	56,39%	H	6,81%	N	4,31%	S	4,93%

## ESEMPIO 5

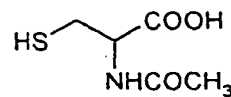
Preparazione di (11 $\beta$ ,16 $\alpha$ )-9-Fluoro-11,17-diidrossi-21 [N-acetil-S-(4-nitroossibutirroil) cisteinilossi]-16-metilpregn-1,4-diene-3,20-dione



in cui lo steroide precursore è desametasone di formula (XLIV) e il precursore di B è N-acetil cisteina di formula (CVIII)



(XLIV)



(CVIII)

Il composto viene preparato seguendo la procedura riportata nell'esempio 3. Resa totale 17%.

---

**Analisi elementare**


---

Calc.	C 55,68%	H 6,18%	N 4,19%	S 4,79%
Trov.	C 55,72%	H 6,22%	N 4,15%	S 4,75%

**PROVE FARMACOLOGICHE****ESEMPIO****Tossicità Acuta**

La tossicità acuta é stata valutata somministrando ad un

gruppo di 10 topi peso di 20 g una dose sola di ognuno dei composti in esame, mediante cannula, per via orale in una sospensione acquosa di carbossimetilcellulosa 2% p/v.

Gli animali vengono tenuti sotto osservazione per 14 giorni. In nessuno degli animali del gruppo si é verificata la comparsa di sintomi tossici, anche dopo somministrazione di una dose di 100 mg/Kg.

#### ESEMPIO F1

Modello sperimentale in vivo con N<sup>w</sup>-nitro-L-arginina-metil estere (L-NAME): effetto degli steroidi precursori e dei corrispondenti composti secondo la presente invenzione sull'ipertensione (pressione ematica) e il danno epatico indotti da L-NAME.

Il modello sperimentale adottato é tratto da J. Clin. Investigation 90, 278-281, 1992.

La disfunzione endoteliale viene determinata valutando il danno epatico (GPT glutammico-piruvico transaminasi) e l'ipertensione sanguigna indotti da L-NAME.

---

Gli animali (ratti Long Evans, peso medio 350-450 g) sono divisi in due gruppi, di cui uno riceve per 4 settimane L-NAME disciolto alla concentrazione di 400 mg/litro nell'acqua da bere. Vengono costituiti i seguenti gruppi (n. 10 animali per gruppo):

A) Gruppi controllo:

1° gruppo:            trattamento: solo veicolo (soluzione fisiolo-



a);

2° gruppo:            trattamento: veicolo + L-NAME,

B) Gruppi trattati con ciascun farmaco:

3° gruppo:            trattamento: veicolo + farmaco,

4° gruppo:            trattamento: veicolo + farmaco + L-NAME.

I farmaci usati nella prova sono idrocortisone, desametasone, prednisolone, acido chenodesossicolico, acido ursodesossicolico ed i corrispondenti derivati secondo la presente invenzione.

Nei gruppi di ratti trattati rispettivamente con idrocortisone, desametasone, prednisolone e i corrispondenti composti secondo la presente invenzione, viene determinata la pressione sanguigna.

Nei gruppi di ratti trattati rispettivamente con acido ursodesossicolico e acido chenodesossicolico e i corrispondenti composti secondo la presente invenzione, viene determinata GPT.

Ogni farmaco viene somministrato per via intraperitoneo una volta al giorno per 4 settimane.

---

Al termine delle quattro settimane l'accesso all'acqua viene impedito e dopo 24 ore gli animali vengono sacrificati.

Quattro ore dopo l'ultima somministrazione si determina la pressione ematica.

Il danno all'endotelio vascolare viene determinato mediante gli effetti cardiovascolari indotti (aumento della

pressione sanguigna) da L-NAME. Il danno epatico viene determinato mediante valutazione della transaminasi glutammico-piruvica (aumento di GPT) dopo il sacrificio.

I risultati sono riportati nelle Tabelle I e II. I valori di pressione ematica % e di GPT % sono riferiti al valore corrispondente trovato negli animali del 1° gruppo controllo. Il valore medio della pressione ematica in questo gruppo è stato di 105 mmHg.

I risultati ottenuti indicano che i precursori steroidei provocano danno epatico e ipertensione arteriosa (GPT e i valori pressori sono % maggiori sia rispetto ai gruppi corrispondenti trattati con il farmaco in assenza di L-NAME che rispetto ai controlli trattati con L-NAME). I prodotti dell'invenzione sono meglio tollerati rispetto ai prodotti di confronto in animali anche non pretrattati con L-NAME.

#### ESEMPIO F2

Test 4: Inibizione della produzione di radicali da DPPH da parte di alcune sostanze usate per preparare i precursori di B<sub>1</sub> secondo l'invenzione.

Il metodo si basa su un saggio colorimetrico in cui si impiega DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazil) (M.S. Nenseter et Al., Atheroscler. Thromb. 15, 1338-1344, 1995).

Vengono inizialmente preparate soluzioni in metanolo delle sostanze in esame a concentrazione finale 100 µM. 0,1 ml di ognuna di queste soluzioni vengono aggiunti a 1 ml di una so-

luzione metanolica 0,1 M di DPPH e poi si porta al volume finale di 1,5 ml. Dopo aver conservato le soluzioni a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti, l'assorbanza si legge alla lunghezza d'onda di 517 nm. Si determina la diminuzione di assorbanza rispetto a quella della soluzione che contiene la stessa concentrazione di DPPH. La capacità del composto in esame di inibire la produzione di radicali viene espressa attraverso la seguente formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono, rispettivamente, i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame assieme a DPPH e della soluzione contenente solo DPPH.

Il composto da utilizzare come precursore di B o di B<sub>1</sub> secondo la presente invenzione non soddisfa il test 4 se la capacità di inibire la produzione di radicali, come sopra definita, è uguale o maggiore al 50%.

Nella Tabella III sono riportati i risultati ottenuti con le seguenti sostanze: N-acetilcisteina, cisteina, acido ferulico, (L)-carnosina, acido gentisico, acido 4-tiazolidin carbossilico e acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico.

La Tabella III mostra che:

- N-acetilcisteina, cisteina, acido ferulico, (L)-carnosina, acido gentisico soddisfano il test 4 in quanto inibiscono la produzione di radicali indotta da DPPH in misura > 50%.

Pertanto possono essere usati come precursori del composto B

nella sintesi dei composti secondo la presente invenzione in quanto soddisfano il test 4.

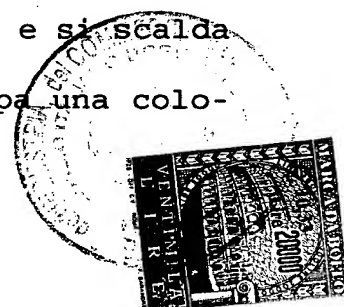
- L'acido 4-tiazolidin carbossilico e l'acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico non soddisfano il test 4 in quanto non inibiscono la produzione di radicali da DPPH, e pertanto possono essere usati come precursori dei composti B o di B<sub>1</sub> secondo la presente invenzione, se soddisfano il successivo test 5.

#### ESEMPIO F3

Test 5: Inibizione della produzione di radicali da Fe<sup>II</sup> da parte di composti usati come precursori di B, B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H

Aliquote da 0,1 ml di soluzioni in metanolo di acido 4-tiazolidin carbossilico e acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico a concentrazione finale 10<sup>-4</sup> M vengono aggiunte a una soluzione formata da 0,2 ml di 2 mM desossiribosio, 0,4 ml di tampone fosfato pH 7,4 100 mM e 0,1 ml di 1 mM Fe<sup>II</sup>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> in 2mM HCl. Le provette contenenti le miscele di reazione vengono

quindi conservate a 37°C per un'ora. Vengono quindi aggiunti in ogni provetta, nell'ordine, 0,5 ml di una soluzione 2,8% in acqua di acido tricloroacetico e 0,5 ml di una soluzione acquosa 0,1 M di acido tiobarbiturico. Viene costituito un bianco in cui si aggiunge la stessa aliquota di 0,1 ml di metanolo senza i composti in esame. Si chiudono le provette e si scalda in bagno di olio a 100°C per 15 minuti. Si sviluppa una colo-



razione rosa la cui intensità é proporzionale alla degradazione ossidativa del desossiribosio. Si raffredda a temperatura ambiente e si determina l'assorbanza delle soluzioni a 532 nm.

La percentuale di inibizione del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H verso la produzione di radicali viene calcolata attraverso la formula:

$$(1 - A_b/A_c) \times 100$$

in cui A<sub>b</sub> e A<sub>c</sub> sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e il sale di ferro e quella della soluzione contenente solo il sale di ferro.

I risultati sono riportati in Tabella IV che mostra che entrambi gli acidi soddisfano il test 5 in quanto inibiscono la produzione di radicali da parte di Fe<sup>II</sup> in percentuale maggiore del 50%. Quindi l'acido 4-tiazolidin carbossilico e l'acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico possono essere usati come precursori di B per ottenere i composti della presente invenzione.

---



Tabella I

Studio della tollerabilità vascolare di alcuni steroidi e dei corrispondenti derivati secondo l'invenzione in animali (ratti) non trattati e trattati con L-NAME. La tollerabilità vascolare viene indicata come variazione % della pressione ematica rispetto ai controlli non trattati con L-NAME e trattati con il solo veicolo (sol. fisiologica)				
Composto	Animali non trattati		Animali trattati con L-NAME	
	dose mg/Kg i.p.	var. pressoria %	dose mg/Kg i.p.	var. pressoria %
veicolo	-	100	-	140
idrocortisone	10	115	5	160
der. idrocortisone es. 4	10	98	5	120
dexamethasone	5	125	25	170
der. dexamethasone es. 5	5	103	25	125
prednisolone	10	119	15	165
der. prednisolone es. 3	10	102	15	110

Tabella II

<p>Studio della tollerabilità epatica di alcuni steroidi e dei corrispondenti derivati secondo l'invenzione in animali (ratti) non trattati e trattati con L-NAME. La tollerabilità epatica viene indicata come variazione % di GPT rispetto ai controlli non trattati con L-NAME e trattati con il solo veicolo (sol. fisiologica)</p>				
Composto	Animali non trattati		Animali trattati con L-NAME	
	dose mg/Kg i.p.	var. GPT %	dose mg/Kg i.p.	var. GPT %
veicolo	-	100	-	230
acido chenodesossicolico	100	150	100	350
der. acido chenodesossicolico es. 2	100	105	100	130
acido ursodesossicolico	100	130	100	276
der. acido ursodesossicolico es. 1	100	103	100	123

Tabella III

Test 4 : Screening della capacità di alcune sostanze di inibire la produzione di radicali da parte di DPPH.	
Composto	% inibizione radicali da DPPH
Solvente	0
N-acetilcisteina	100
Cisteina	100
Acido ferulico	100
(L) -carnosina	80
Acido gentisico	80
Acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico	0
Acido 4-tiazolidin carbossilico	0



Tabella IV

Test 5 : studio della capacità di alcune sostanze di inibire la produzione di radicali indotta da $\text{Fe}^{\text{II}}$ .	
Composto	% inibizione radicali da $\text{Fe}^{\text{II}}$
bianco	0
Acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico	100
Acido 4-tiazolidin carbossilico	100

## RIVENDICAZIONI

1. Composti steroidei o loro sali aventi le seguenti formule generali (I) e (II):



in cui:

s = é un intero uguale ad 1 o 2, preferibilmente s = 2;

b<sub>0</sub> = 0 oppure 1;

A = R-, in cui R é il radicale del farmaco steroideo come sotto definito,

B = -T<sub>B</sub>-X<sub>2</sub>-T<sub>BI</sub>- in cui

T<sub>B</sub> e T<sub>BI</sub> sono uguali o diversi;

T<sub>B</sub> = (CO) quando la funzione reattiva nello steroide precursore é -OH; T<sub>B</sub> = X quando la funzione reattiva nello steroide precursore é -COOH;

X = O, S, NR<sub>1C</sub>, R<sub>1C</sub> é H oppure un alchile lineare o ramificato, avente da 1 a 5 atomi di carbonio, oppure una valenza libera;

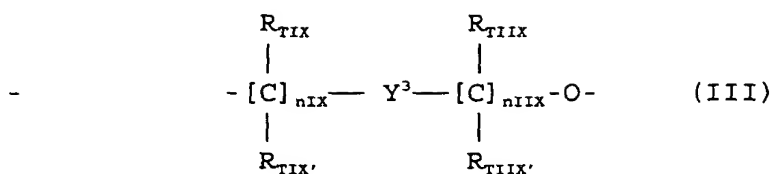
T<sub>BI</sub> = (CO)<sub>tx</sub> oppure (X)<sub>txx</sub>, in cui tx e txx hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che tx = 1 quando txx = 0, tx = 0 quando txx = 1; X é come sopra definito;

X<sub>2</sub> é un pontante bivalente come sotto definito;

C é il radicale bivalente -T<sub>c</sub>-Y- in cui

T<sub>c</sub> = (CO) quando tx = 0, T<sub>c</sub> = X quando txx = 0, essendo X come sopra definito;

Y é:



in cui:

$nIX$  é un intero compreso tra 0 e 3, preferibilmente 1;

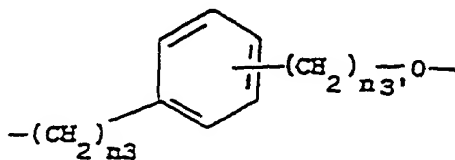
$nIIX$  é un intero compreso tra 1 e 3, preferibilmente 1;

$R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$ , uguali o diversi tra loro sono H oppure alchile lineare o ramificato  $C_1-C_4$ ; preferibilmente  $R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$  sono H.

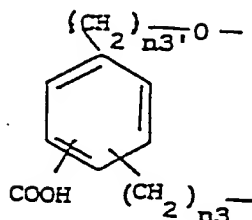
$Y^3$  é un anello eterociclico contenente uno o due atomi di azoto, saturo, insaturo o aromatico, a 5 o 6 atomi,

oppure Y é  $Y_0$ , scelto tra i seguenti:

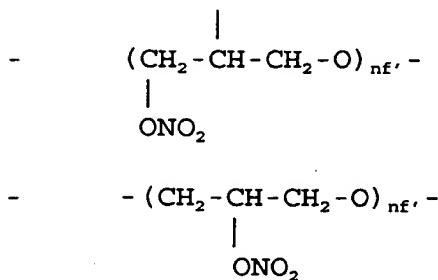
- un gruppo alchilenossi  $R'O$  in cui  $R'$  é  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificato quando possibile, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un cicloalchilene avente da 5 a 7 atomi di carbonio, nell'anello cicloalchilico uno o più atomi di carbonio possono essere sostituiti da eteroatomi, l'anello può avere catene laterali di tipo  $R'$ , essendo  $R'$  come sopra definito; oppure



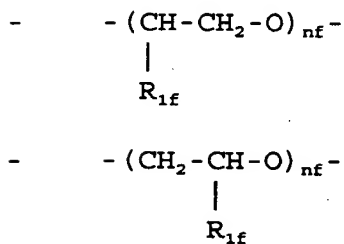
in cui  $n_3$  un intero da 0 a 3 ed  $n_3'$  un intero da 1 a 3;



in cui  $n_3$  ed  $n_3'$  hanno il significato sopra indicato



in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 4;

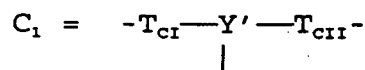


in cui  $R_{1f} = \text{H, CH}_3$  e  $nf$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4;

preferibilmente  $Y = Y_0 = -\text{R}'\text{O}-$  in cui  $\text{R}'$  è come sopra definito, preferibilmente  $\text{R}'$  è un alchile  $\text{C}_1\text{-C}_6$ .



in cui:



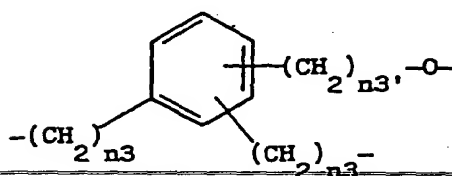
in cui  $t_{CI}$  e  $T_{CII}$  sono uguali o diversi,

$T_{CI} = (CO)$  quando la funzione reattiva dello steroide precursore è  $-OH$ ,  $T_{CI} = X$  quando la funzione reattiva dello steroide precursore è  $-COOH$ , essendo  $X$  come sopra definito;

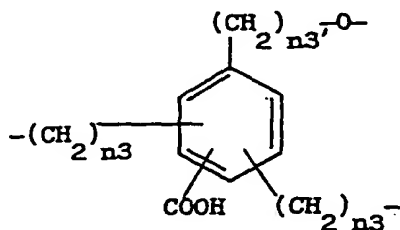
$T_{CII} = (CO)_{tI}$  oppure  $(X)_{tII}$ , in cui  $tI$  e  $tII$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $tI = 1$  quando  $tII = 0$ ,  $tI = 0$  quando  $tII = 1$ ;  $X$  è come sopra definito;

$Y'$  è come  $Y$  sopra definito, ma con tre valenze libere invece di due, preferibilmente è scelto tra i seguenti:

- un gruppo  $-R'O-$  in cui  $R'$  è  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificato, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un anello saturo avente da 5 a 7 atomi di carbonio, opzionalmente sostituito; oppure

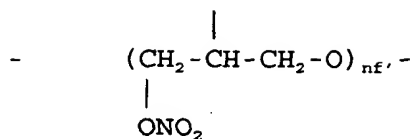


in cui  $n3$  è un intero da 0 a 3 ed  $n3'$  è un intero da 1 a 3;

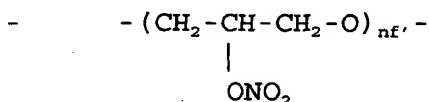


in cui  $n3$  ed  $n3'$  hanno il significato sopra indicato

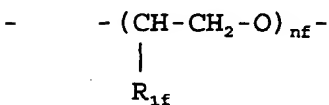




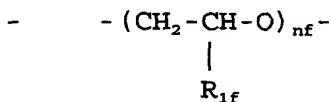
in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera



in cui  $\text{nf}'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 4; in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera



in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera



in cui  $\text{R}_{1f} = \text{H}, \text{CH}_3$  e  $\text{nf}$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4; in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una va-

lenza libera

preferibilmente  $\text{Y}' = - \text{R}'\text{O}-$  in cui  $\text{R}'$  é  $\text{C}_2 - \text{C}_4$  lineare o ramificato, l'ossigeno che in  $\text{Y}'$  é legato covalentemente al gruppo  $-\text{N}(\text{O})_2$  si trova all'estremità del legame libero indicato nella formula di  $\text{C}_1$ ;

oppure  $\text{Y}' = \text{Y}_0$  come definito in (I) ma con tre valenze libere invece di 2;

$$B_1 = -T_{BII}-$$

in cui  $X_{2a}$  é un radicale monovalente,

$T_{BII} = (CO)$  quando  $tI = 0$ ,  $T_{BII} = X$  quando  $tII = 0$ ,  
essendo  $X$  come sopra definito;

- $X_2$ , radicale bivalente, é tale che il corrispondente precursore di  $B$ ,  $-T_B-X_2-T_{BI}-$  soddisfi il test 4 o il test 5, precursore in cui le valenze libere di  $T_B$  e di  $T_{BI}$  sono saturate ciascuna con  $OZ$ , con  $Z$  oppure con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  uguali o diversi e  

|

hanno i valori di  $Z$  come sopra definito, a seconda che  $T_B$  e/o  $T_{BI} = CO$  oppure  $X$ , in funzione dei valori di  $t$ ,  $t'$ ,  $tx$  e  $txx$ ;
  - il precursore di  $C$  quando  $b0 = 0$  é del tipo  $-T_C-Y-H$  in cui la valenza libera di  $T_C$  é saturata con  $OZ$ ,  $Z$  oppure con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  come sopra  

|

definiti, soddisfi il test 5;
  - $X_{2a}$  radicale monovalente, tale che il corrispondente precursore di  $B_1$   $-T_{BII}-X_{2a}$  soddisfi il test 4 o il  

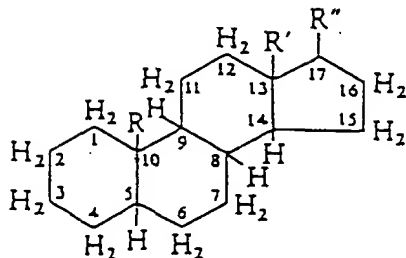

---

test 5, precursore in cui la valenza libera di  $T_{BII}$  é saturata con  $OZ$  o con  $Z$  o con  $-Z^I-N-Z^{II}$ ,  

|

essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  uguali o diversi e hanno i valori di  $Z$  come sopra definiti, a seconda che  $T_{BII} = CO$  oppure  $X$ , in funzione dei valori di  $tI$  e  $tII$ ;
- 
-

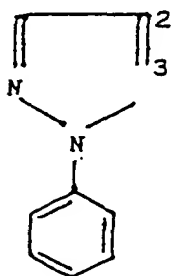
A = R- ha la seguente struttura



in cui al posto degli idrogeni dei gruppi CH o dei due idrogeni dei gruppi CH<sub>2</sub> indicati nella formula generale si possono avere i seguenti sostituenti:

in posizione 1-2: ci può essere un doppio legame;

in posizione 2-3: ci può essere il seguente sostituyente:



in posizione 2: ci può essere Cl, Br;

in posizione 3: ci può essere CO, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Cl, OH;

in posizione 3-4 : ci può essere un doppio legame;

in posizione 4-5: ci può essere un doppio legame;

in posizione 5-6: ci può essere un doppio legame;

in posizione 5-10: ci può essere un doppio legame;

in posizione 6: ci può essere Cl, F, CH<sub>3</sub>, -CHO;

in posizione 7: ci può essere Cl, OH;

in posizione 9: ci può essere Cl, F;

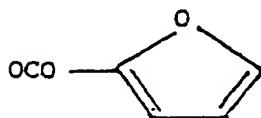
in posizione 11: ci può essere OH, CO, Cl, CH<sub>3</sub>;



in posizione 16: ci può essere  $\text{CH}_3$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{CH}_2$ ;

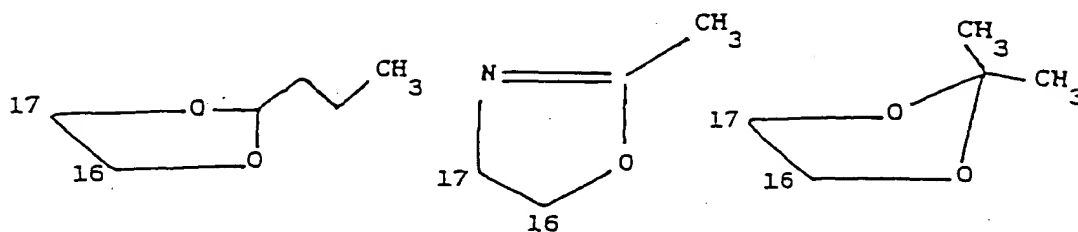
in posizione 17: ci può essere  $\text{OH}$ ,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCO}(\text{O})_{ua}(\text{CH}_2)_{va}\text{CH}_3$ ,

$\text{C}\equiv\text{CH}$  oppure



in cui  $ua$  è un intero uguale a 0 o 1,  $va$  è un intero da 0 a 4;

in posizione 16-17: ci possono essere i seguenti gruppi



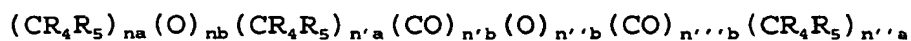
$R$  ed  $R'$ , uguali o diversi fra di loro, possono essere idrogeno o alchili lineari o ramificati da 1 a 4 atomi di carbonio, preferibilmente  $R = R' = \text{CH}_3$ ;

$R''$  è  $-(\text{CO}-L)_t-(L)_{t2}-(X_o^I)_{t1}-$

in cui  $t$ ,  $t1$  e  $t2$  sono interi uguali o diversi fra loro, uguali a 0 o 1, con la condizione che quando  $t = 0$   $t2 = 1$  e quando  $t = 1$   $t2 = 0$ , e che  $t$  e  $t1$ , oppure  $t2$  e  $t1$ , non

possono essere contemporaneamente uguali a 0 quando  $A$  non contiene gruppi  $-\text{OH}$ ;

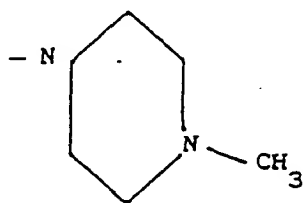
il pontante bivalente  $L$  è scelto fra:



in cui  $na$ ,  $n'a$ , ed  $n''a$ , uguali o diversi tra loro, sono interi da 0 a 6, preferibilmente 1-3;  $nb$ ,  $n'b$ ,  $n''b$  e

$n''b$ , uguali o diversi tra loro, sono interi uguali a 0 o 1;  $R_4$ ,  $R_5$ , uguali o diversi fra loro, sono scelti fra H, alchile lineare o ramificato da 1 a 5 atomi di carbonio, preferibilmente da 1 a 3;

$X_o^I$  è X come sopra definito ma  $R_{1c}$  è un alchile lineare o ramificato da 1 a 10 atomi di carbonio, oppure uguale a  $X_2^I$  in cui  $X_2^I$  è uguale a OH,  $CH_3$ , Cl,  $N(-CH_2-CH_3)_2$ ,  $SCH_2F$ , SH, oppure



in cui il test 4 è il seguente: è una determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche di concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B o di  $B_1$  a una soluzione metanolica di DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl); dopo aver conservato la soluzione a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti, si legge l'assorbanza della soluzione in esame e di una soluzione contenente solamente DPPH nella stessa quantità, alla lunghezza d'onda di 517 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B o di  $B_1$  verso la produzione di radicali indotta da DPPH attraverso la formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e DPPH e quello della soluzione contenente solo DPPH, il test 4 é soddisfatto dai composti precursori di B o di  $B_1$  se la percentuale di inibizione come sopra definita é maggiore o uguale del 50%;

in cui il test 5 é il seguente: é una determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche di concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B o di  $B_1$  o di  $C = -T_c-Y-H$  a una soluzione contenente aliquote rispettivamente di 2 mM di desossiribosio in acqua, 100 mM di tampone fosfato e 1 mM del sale misto  $Fe^{II}(NH_4SO_4)_2$ ; dopo aver condizionato la soluzione a  $37^\circ C$  per un'ora si aggiungono, nell'ordine, aliquote di acido tricloroacetico 2,8% e di acido tiobarbiturico 0,5 M, si scalda a  $100^\circ C$  per 15 minuti e si legge l'assorbanza della soluzione in esame a 532 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B o di  $B_1$  o di  $C = -T_c-Y-H$  verso la produzione di radicali attraverso la formula:

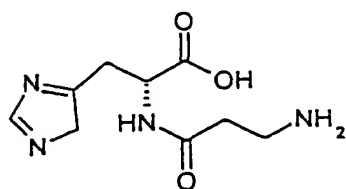
$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e il sale di ferro e quella della soluzione contenente solo il sale di ferro, il composto soddisfa il test 5 quando la

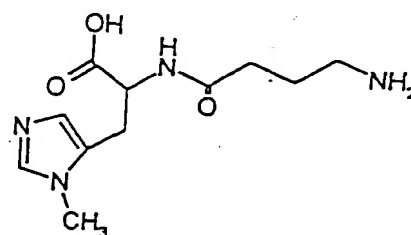
percentuale d'inibizione come sopra definita del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H é maggiore o uguale al 50%.

2. Composti secondo la rivendicazione 1 in cui il composto precursore di B o di B<sub>1</sub> che soddisfa il test 4, é scelto nelle seguenti classi:

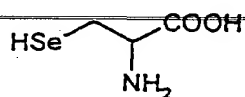
- Amminoacidi, scelti tra i seguenti: L-carnosina (formula CI), anserina (CII), selenocisteina (CIII), selenometionina (CIV), penicilamina (CV), N-acetilpenicilamina (CVI), cisteina (CVII), N-acetilcistena (CVIII), glutatione (CIX) o suoi esteri, preferibilmente estere etilico o isopropilico:



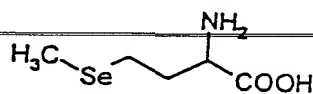
(CI)



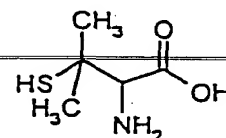
(CII)



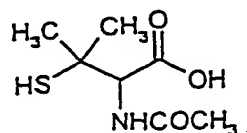
(CIII)



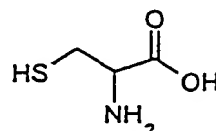
(CIV)



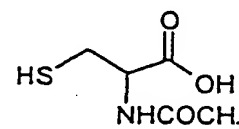
(CV)



(CVI)

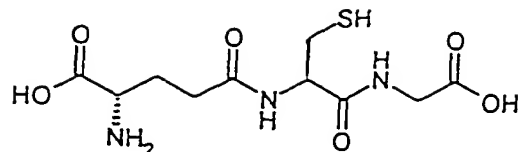


(CVII)



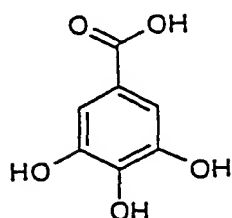
(CVIII)



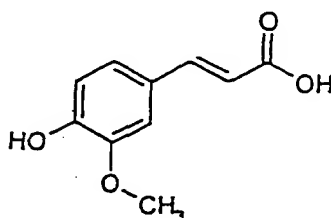


(CIX)

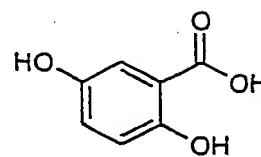
- Idrossiacidi, scelti tra i seguenti: acido gallico (formula DI), acido ferulico (DII), acido gentisico (DIII), acido citrico (DIV), acido caffeico (DV)



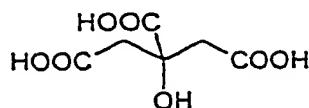
(DI)



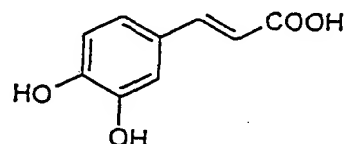
(DII)



(DIII)



(DIV)

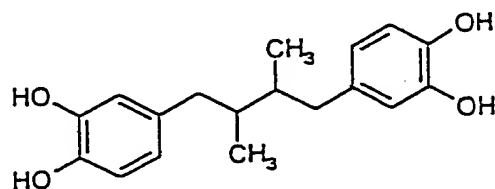


(DV)

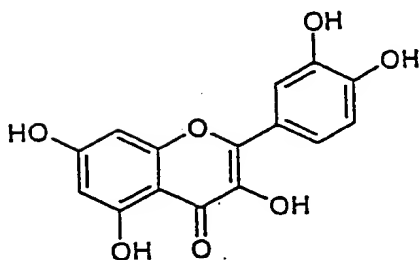
- Mono- e polialcooli aromatici ed eterociclici, scelti tra i seguenti: acido nordiidroguaiaretico (EI), quercetina (EII), catechina (EIII), kaempferolo (EIV), sulfuretina (EV), acido ascorbico (EVI), acido isoascorbico (EVII), idrochinone (EVIII), gossypol (EIX), acido reductico (EX), metossiidrochinone (EXI), idrossiidrochinone (EXII), propil gallato (EXIII), saccarosio (EXIV), vitamina E (EXV), vita-



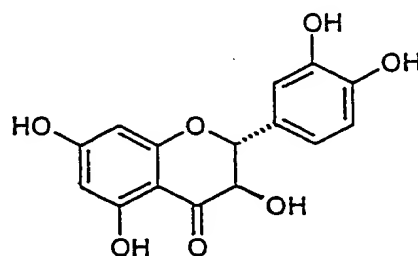
mina A (I), 8-chinololo (EXVII), tert-butyl-4-idrossianisolo (EXVIII), 3-idrossiflavone (EXIX), 3,5-tertbutil-p-idrossitoulene (EXX), p-tertbutil fenolo (EXXI), timololo (EXXII), xibornolo (EXXIII), 3,5-di-tertbutil-4-idrossibenzil-tioglicollato (EXXIV), 4'-idrossibutiranilide (EXXV), guaiacolo (EXXVI), tocololo (EXXVII), isoeugenolo (EXXVIII), eugenolo (EXXIX), piperonil alcol (EXXX), allopurinolo (EXXXI):



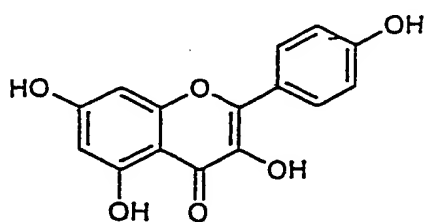
(EI)



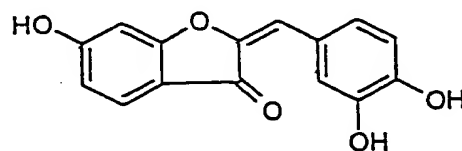
(EII)



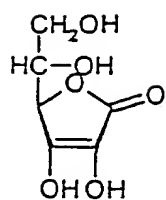
(EIII)



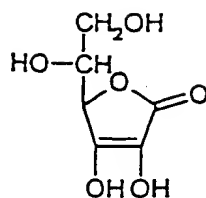
(EIV)



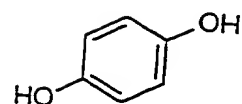
(EV)



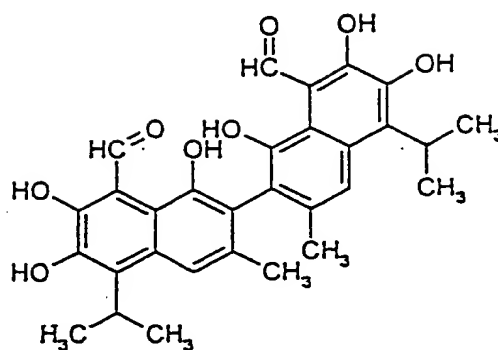
(EVI)



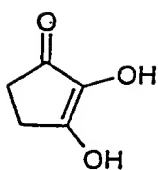
(EVII)



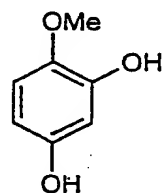
(EVIII)



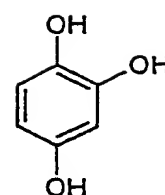
(EIX)



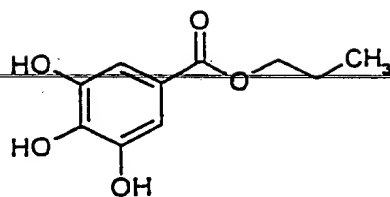
(EX)



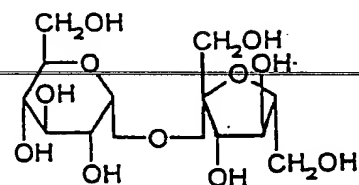
(EXI)



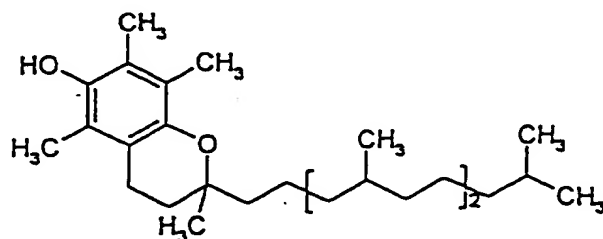
(EXII)



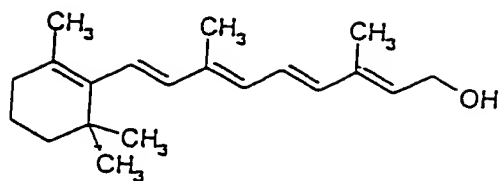
(EXIII)



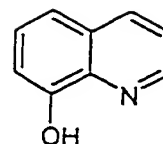
(EXIV)



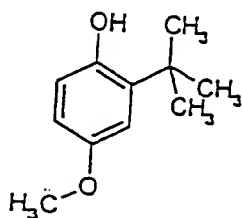
(EXV)



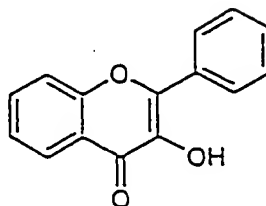
(EXVI)



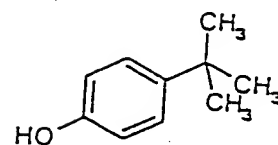
(EXVII)



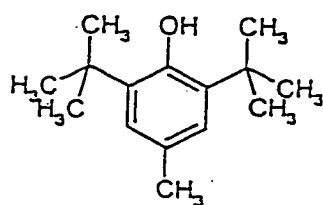
(EXVIII)



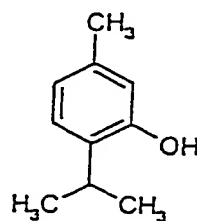
(EXIX)



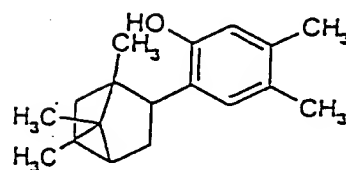
(EXXI)



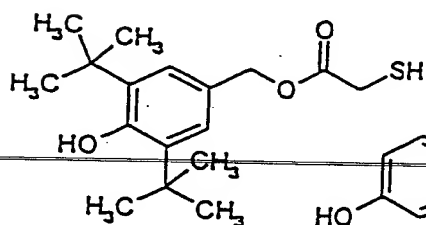
(EXX)



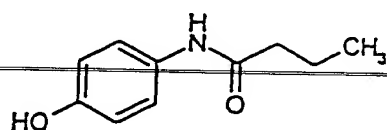
(EXXII)



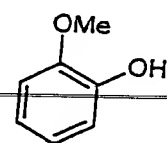
(EXXIII)



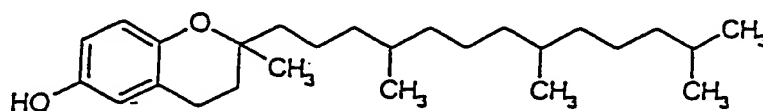
(EXXIV)



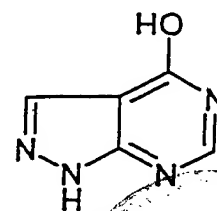
(EXXV)



(EXXVI)

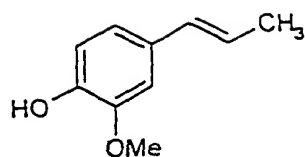


(EXXVII)

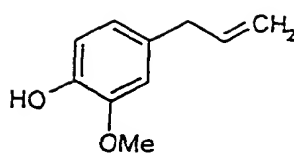


(EXXXI)

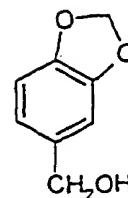




(EXXVIII)

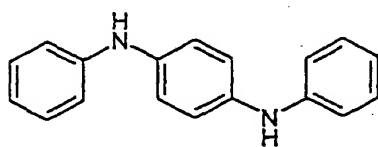


(EXXIX)

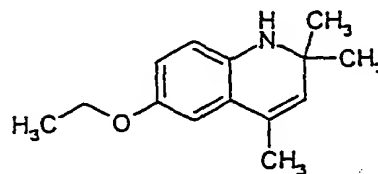


(EXXX)

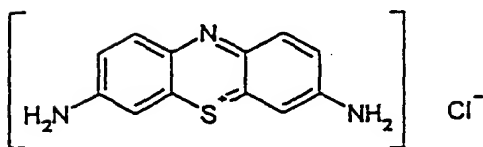
- Ammine aromatiche ed eterocicliche, scelte tra le seguenti: N, N'-difenil-p-fenilendiammina (MI), etossichina (MII), tionina (MIII), idrossiurea (MIV):



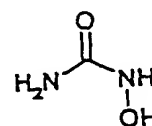
(MI)



(MII)

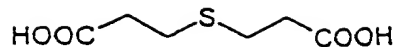


(MIII)

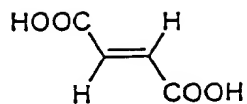


(MIV)

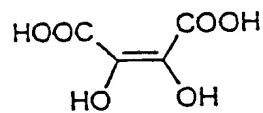
- Composti contenenti almeno una funzione acida libera, scelti tra i seguenti: acido 3,3'-tiodipropionico (NI), acido fumarico (NII), acido diidrossimaleico (NIII), acido tioctico (NIV), acido edetico (NV), bilirubina (NVI), acido 3,4-metilendirossicinnamico (NVII), acido piperonilico (NVIII):



(NI)



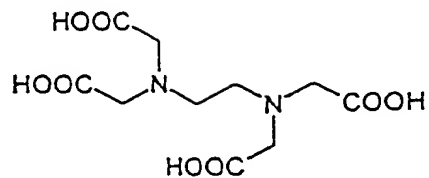
(NII)



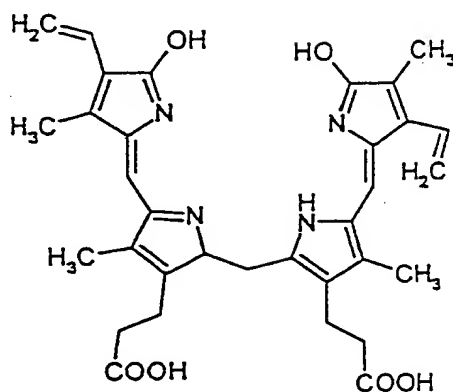
(NIII)



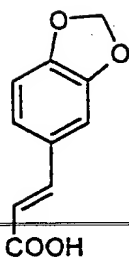
(NIV)



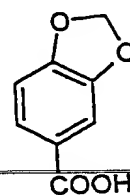
(NV)



(NVI)



(NVII)

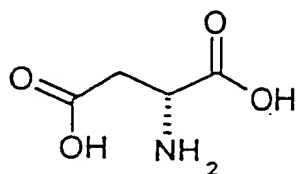


(NVIII)

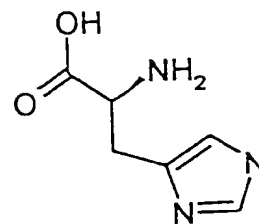
3. Composti secondo la rivendicazione 1 in cui il composto precursore di B o di B<sub>1</sub> che soddisfa il test 5, é scelto tra i seguenti:

- Aminoacidi: acido aspartico (PI), istidina (PII), 5-idrossitriptofano (PIII), acido 4-tiazolidincar-

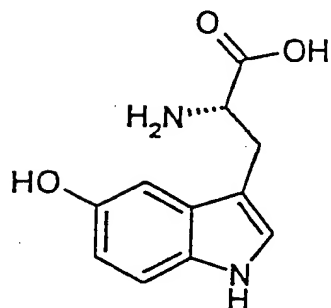
bossilico (PIV), acido 2-oxo-4-tiimidincarbossilico (PV)



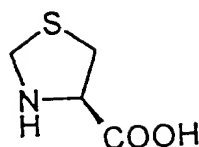
(PI)



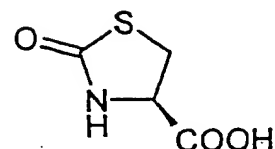
(PII)



(PIII)

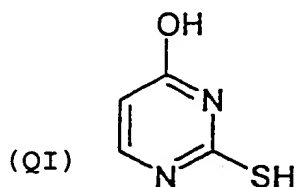


(PIV)



(PV)

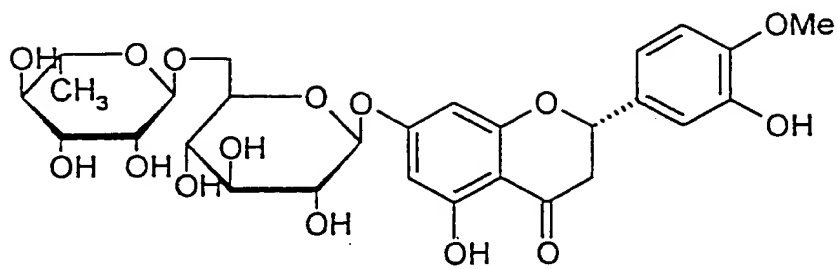
- Mono e polialcooli o tioli: 2-tiouracile (QI), 2-mercaptoetanolo (QII), esperidina (QIII), secalciferolo (QIV), 1- $\alpha$ -OH vitamina D2 (QV), flocalcitriolo (QVI), 22-oxacalcitriolo (QVII), il derivato della vitamina D3 esterificato con il radicale della vitamina A (QVIII), il composto di formula (QIX), 24,28-metilene-1 $\alpha$ -idrossivitamina D2 (QX) il composto derivato dalla 1 $\alpha$ ,25-diidrossivitamina D2 (QXI), 2-mercaptoimidazolo (QXII).



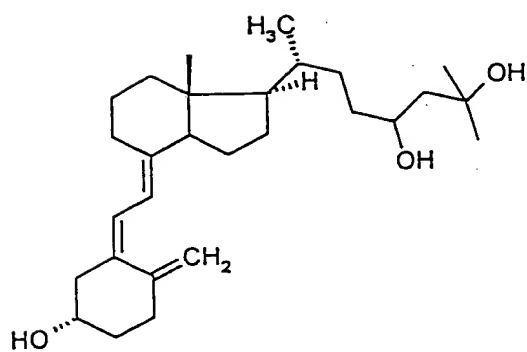
(QI)



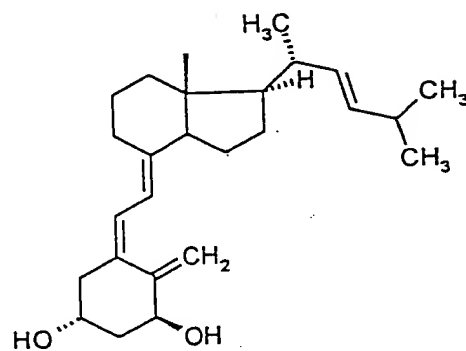
(QII)



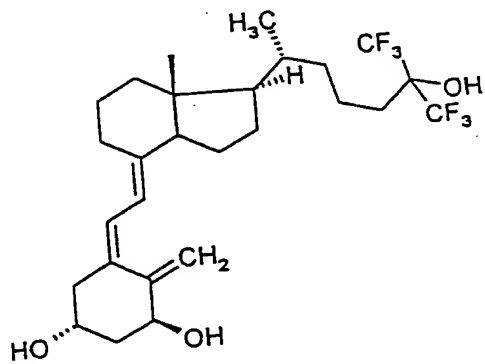
(QIII)



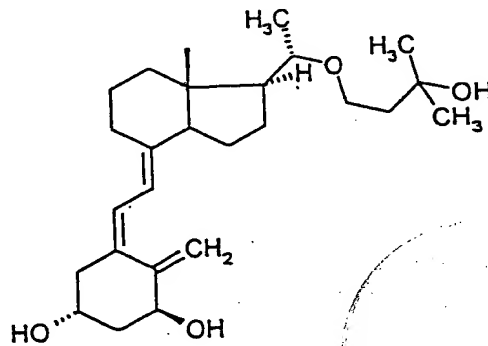
(QIV)



(QV)

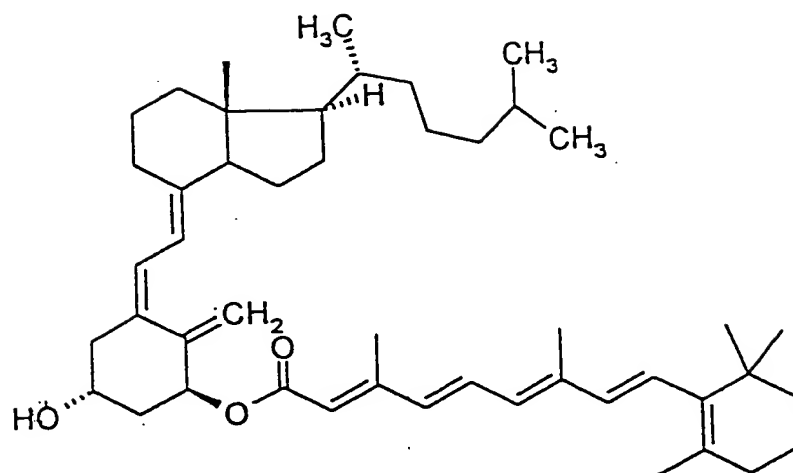


(QVI)

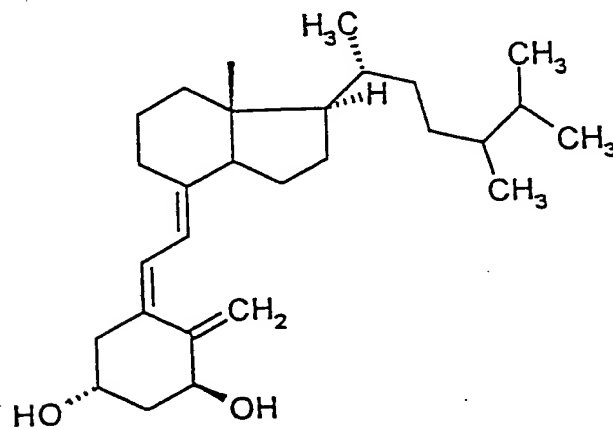


(QVII)

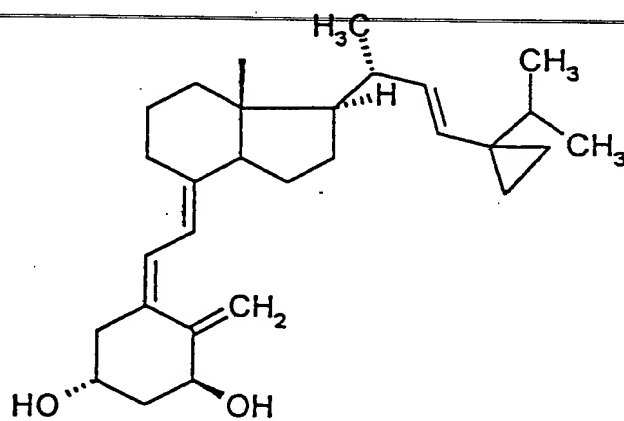




(QVIII)

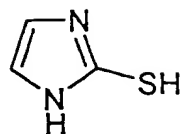


(QIX)

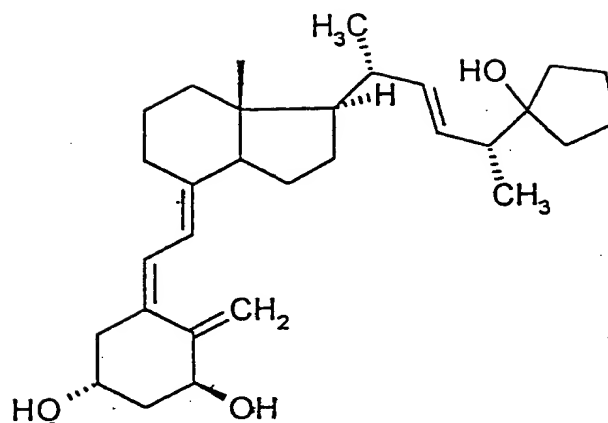


(QX)



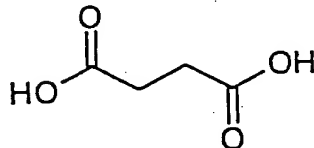


(QXII)



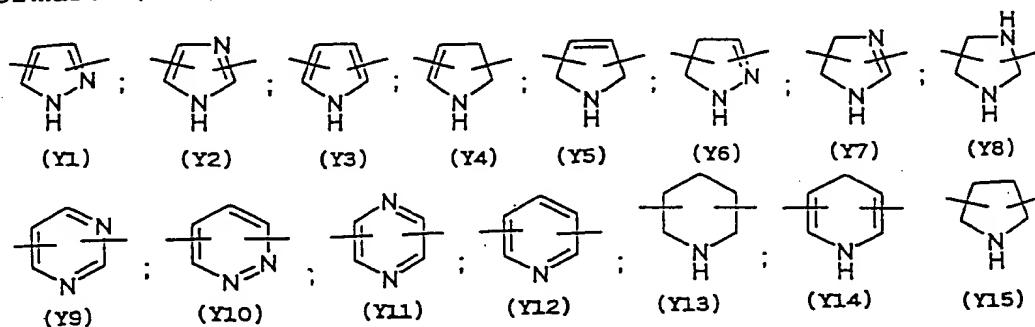
(QXI)

- Acido succinico (RI)



(RI)

4. Composti secondo le rivendicazioni 1-2 in cui i precursori di B e B<sub>1</sub> sono quelli che soddisfano il test 4.
5. Composti secondo le rivendicazioni 1-4 in cui Y<sup>3</sup> nella formula (III) é scelto fra i seguenti:



6. Composti secondo la rivendicazione 5 in cui  $Y^3$  é  $Y_{12}$  (piridile) sostituito nelle posizioni 2 e 6.
7. Composti secondo le rivendicazioni 1-6 in cui negli steroidi precursori  $R'' = -CO-CH_2OH, -CH(CH_3)-CH_2-CH_2-COOH$ .
8. Composti secondo le rivendicazioni 1-7 in cui negli steroidi precursori la funzione ossidrilica é in posizione 3 e/o in posizione 11, e/o aventi in  $R''$  una funzione ossidrilica o carbossilica in posizione terminale.
9. Composti secondo le rivendicazioni 1-8, in cui gli steroidi precursori sono scelti tra i seguenti: Budesonide, Hydrocortisone, Alclomethasone, Algestone, Beclomethasone, Betamethasone, Chloroprednisone, Clobetasol, Clobetasone, Clocortolone, Cloprednol, Cortisone, Corticosterone, Deflazacort, Desonide, Desoximethasone, Dexamethasone, Diflorasone Diflucortolone, Difluprednate, Fluazacort, Flucloronide, Flumethasone, Flunisolide, Fluocinolone Acetonide, Fluocinonide, Fluocortyn Butyl, Fluocortolone, Fluorometholone, Fluperolone Acetate, Fluprednidene Acetate, Fluprednisolone, Flurandrenolide, Formocortol, Halcinonide, Halobetasol Propionate, Halometasone, Halopredone Acetate, Hydrocortamate, Loteprednol Etabonate, Medrysone, Meprednisone, Methylprednisolone, Mometasone Furoate, Paramethasone, Prednicarbate, Prednisolone, Prednisolone 25-Diethylaminoacetate, Prednisolone Sodium Phosphate, Prednisone, Prednival, Prednylidene, Rimexolo-

ne, Triamcinolone, Triamcinolone Acetonide, 21-Acetoxy-pregnenolone, Cortivazol, Amcinonide, Fluticasone Propionate, Mazipredone, Tixocortol, Triamcinolone Hexacetonide, acido Ursodesossicolico, acido Chenodesossicolico, Mitatrienediolo, Moxestrolo, Etinilestradiolo, Estradiolo, Mestranolo.

10. Composti o sali, o loro composizioni secondo le rivendicazioni 1-9 per uso come medicamento.
11. Impiego dei composti o sali, o loro composizioni secondo le rivendicazioni 1-9 per la preparazione di farmaci per l'applicazione terapeutica stress ossidativo.
12. Formulazioni farmaceutiche contenenti come principio attivo i composti o loro sali delle rivendicazioni 1-9.

Milano, **13 APR. 1999**

p. NICOX S.A.

SAMA PATENTS  
*Alessandro Riva*  
(Alessandro Riva)



